

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

EDUARDO GOMES DE SOUSA NETO

EFEITO DO TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE
SOBRE A VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA E
CONTRATILIDADE CARDÍACA EM RATOS DIABÉTICOS

CURITIBA

2016

EDUARDO GOMES DE SOUSA NETO

EFEITO DO TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE
SOBRE A VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA E
CONTRATILIDADE CARDÍACA EM RATOS DIABÉTICOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fisiologia, área de concentração células excitáveis, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Fisiologia.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Augusto Lavezzo Dias

CURITIBA

2016

Universidade Federal do Paraná. Sistema de Bibliotecas.
Biblioteca de Ciências Biológicas.
(Rosilei Vilas Boas – CRB/9-939).

Sousa Neto, Eduardo Gomes de.

Efeito do treinamento intervalado de alta intensidade sobre a variabilidade da frequência cardíaca e contratilidade cardíaca em ratos diabéticos. / Eduardo Gomes de Sousa Neto – Curitiba, 2016.

45 f. : il.

Orientador: Fernando Augusto Lavezzo Dias.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia.

1. Diabetes. 2. Frequência Cardíaca. 3. Exercícios físicos – Aspectos fisiológicos. 4. Contração muscular. I. Título. II. Dias, Fernando Augusto Lavezzo. III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia.

CDD (20. ed.) 616.462



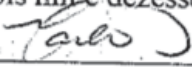
Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Departamento de Fisiologia
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia



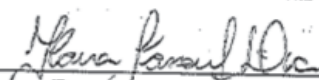
Ata da defesa de dissertação de mestrado de EDUARDO GOMES DE SOUSA NETO

Aos quatro dias do mês de novembro do ano de dois mil e dezesseis, foi realizada no Auditório do Departamento de Fisiologia no Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, a defesa de dissertação do mestrando **EDUARDO GOMES DE SOUSA NETO**, intitulada **“EFEITO DO TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE SOBRE A VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA E CONTRATILIDADE CARDÍACA EM RATOS DIABÉTICOS”**. A abertura teve início às 14h00min pelo Presidente da Banca Examinadora e Orientador do candidato, Professor Doutor Fernando Augusto Lavezzo Dias. O Presidente apresentou ao público presente os membros da banca examinadora e logo passou a palavra ao aluno, para que fizesse uma apresentação sucinta de sua dissertação. Após a explanação oral, o Professor Doutor Fernando Augusto Lavezzo Dias passou à palavra a primeira examinadora, Professora Doutora Marli Cardoso Martins Pinge do Departamento de Ciências Fisiológicas da UEL. Na sequência, passou à palavra a segunda examinadora, Professora Doutora Ilana Kassouf Silva do Departamento de Fisiologia da UFPR. O aluno respondeu as perguntas dos examinadores e se posicionou frente às críticas. Findas as arguições pelos demais membros da banca, o Presidente, Professor Doutor Fernando Augusto Lavezzo Dias fez uma rápida apreciação das conclusões mais importantes dos debates realizados e comunicou que a Banca Examinadora iria reunir-se em sessão secreta para discussão e atribuição dos conceitos. Os trabalhos foram interrompidos por cinco minutos. Após haver analisado o referido trabalho e argüido o candidato, os membros da banca examinadora reunidos em sessão secreta deliberaram pela “APROVAÇÃO”, habilitando-o ao título de Mestre em Fisiologia, condicionada à implementação das correções sugeridas pelos membros da banca examinadora e ao cumprimento integral das exigências estabelecidas no Art. 59º do Regimento interno deste Programa de Pós-Graduação. Eu, Professor Doutor Fernando Augusto Lavezzo Dias, Presidente da Banca Examinadora lavrei a presente ata, da qual assino juntamente com os senhores examinadores.

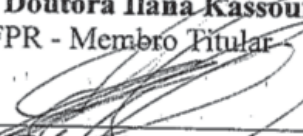
Curitiba, 04 de novembro de dois mil e dezesseis.



Professora Doutora Marli Cardoso Martins Pinge
UEL - Membro Titular



Professora Doutora Ilana Kassouf Silva
UFPR - Membro Titular



Professor Doutor Fernando Augusto Lavezzo Dias
UFPR - Orientador e Presidente da Banca Examinadora

Centro Politécnico – Caixa Postal 19031 – CEP: 81531-990 – Curitiba/PR
Telefones: (41) 3361-1714 – Fax (41) 3361-1714 – fisiologia@ufpr.br
www.bio.ufpr.br



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Departamento de Fisiologia
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia



PARECER

Os abaixo-assinados, membros da Banca Examinadora da Defesa de Dissertação de Mestrado, a qual se submeteu **EDUARDO GOMES DE SOUSA NETO** para fins de obter o título de Mestre em Fisiologia pela Universidade Federal do Paraná, são de parecer unânime à APROVAÇÃO do acadêmico.

A obtenção do título está condicionada à implementação das correções sugeridas pelos membros da banca examinadora e ao cumprimento integral das exigências estabelecidas no Regimento interno deste Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 04 de novembro de 2016.

Professora Doutora Marli Cardoso Martins Pingé
UEL - Membro Titular

Professora Doutora Ilana Kassouf Silva
UFPR - Membro Titular

Professor Doutor Fernando Augusto Lavezzo Dias
UFPR - Orientador e Presidente da Banca Examinadora

Hoje longe, distante dos meus, dedico este trabalho aos meus pais, que dedicam a vida a mim e à minha irmã. Aqui, um coração cheio de gratidão por aqueles que me deram a vida e me ensinaram que quanto mais longe se chega, mais humilde devemos ser.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Jesus Cristo e à Maria mãe de Deus, pelos incontáveis ensinamentos, pelas graças alcançadas e por mais uma vitória em minha vida.

Aos meus pais, Wanderley Carlos e Norma Dantas, pelos incontáveis momentos em que me permitiram amadurecer, andar com minhas pernas e correr o mundo, apesar da imensa saudade e ansiedade pelo regresso. À minha irmã Waléria Dantas, pelo apoio, amor imensurável e por acreditar em mim, sempre.

Ao meu pai biológico e grande amigo, Josimar Gomes, que investiu tanto quanto pôde em minha carreira profissional, enobrecendo minha existência e me permitindo galgar caminhos privilegiados.

À minha esposa, amante, amiga, conselheira, um obrigado especial, pelo seu apoio nos experimentos, na dissertação e por acalmar minh'alma nos momentos de turbulência, que são característicos de um mestrado. Obrigado meu amor, Jessica Poncheki. Também agradeço à sua família por todo apoio.

Aos demais familiares, que através de minha matriarca, Cacilda Bezerra, saúdo. É impossível aqui descrever o quanto sou grato a todos por tudo que fizeram, fazem, e sem dúvida farão. Em especial agradecer ao meu tio Aldo pelo eterno apoio, ao meu tio Aldemar por tão grande amor e dedicação, aos demais tios Augusto, Carlinhos, Armênio e Amâncio, um grande e sincero obrigado. Às minhas tias Núbia, Neide, Fátima e Branquinha, minha eterna gratidão. Na pessoa de minha prima/irmã Vanylla, que amo indescritivelmente, saúdo e agradeço aos demais primos e primas de todos os graus.

Aos amigos e padrinhos Hallerrandro, Rodolfo, Evangelista, Richardson, Bruno, Michael e Jefferson, um gigantesco obrigado pela parceria, pelo amor, pelos conselhos, por abrilhantar minha vida com tanta felicidade.

Ao professor Dr. Fernando Dias, pelos ensinamentos e pelas broncas, muito necessárias, devo admitir. Com o senhor pude aprender muito, muito além do que tecnicamente deveria. Levarei seus conselhos para sempre comigo, e tentarei me parecer um pouco com o senhor na minha vida profissional e pessoal, pois o tenho como exemplo de pessoa e de professor. Deixo aqui minha imensa gratidão pela sua dedicação a mim durante todo o mestrado.

Antes de me referir aos demais colegas de laboratório, gostaria de tirar uma parte deste agradecimento para agradecer um amigo em especial, por nome de Diego Araújo. Solícito e de uma inteligência ímpar, pacientemente me guiou durante todo o mestrado, me ensinando do mais simples ao mais complexo, e o melhor, não apenas nas atividades técnicas do mestrado. A você Diego, um obrigado cheio de muita gratidão e respeito.

Aos demais amigos de laboratório Henrique, Gislaine, Andriele, João, Cibele, Cláudio, Edilaine, Sérgio, Mateus e Adriele, muitíssimo obrigado por toda a ajuda e disposição para que minha pesquisa fosse possível. Vocês foram essenciais. Aos demais colegas que fiz durante o mestrado, um obrigado a todos.

Através dos professores Dr. Luiz Claudio, que junto aos demais colaboradores do laboratório de metabolismo, ajudaram nesta pesquisa, Dr. Rosalvo Fogaça que nos doou seu tempo e dedicação, assim como a Dra. Ilana Kassouf, gostaria de agradecer a todos os professores do setor de fisiologia e demais setores que nos prestaram, de alguma forma, alguma colaboração. Agradecer também ao secretário da pós-graduação em fisiologia, Roberto, e a técnica Heli por toda ajuda. Muito obrigado.

Por fim, agradeço ao Programa de pós-graduação em Fisiologia da UFPR, ao setor de Ciências Biológicas da UFPR, a CAPES, a UFPR, ao Laboratório Multiusuário de Microscopia de Fluorescência Convencional e Confocal, ao Biotério do setor de Ciências Biológicas da UFPR e a UFRN pela colaboração e parceria.

“O conhecimento guardado, assim como um livro, de nada serve. Passe-o.”
(Eduardo Gomes)

RESUMO

O *Diabetes Mellitus* é uma doença metabólica que pode eventualmente levar à alterações cardíacas. Ultimamente tem-se discutido os efeitos de variados tipos de treinamento físico e seus benefícios no paciente com *diabetes mellitus*. O que ainda é desconhecido são os efeitos do treinamento intervalado de alta intensidade sobre a variabilidade da frequência cardíaca e contratilidade cardíaca em diabéticos. Portanto, este estudo avaliou os efeitos do treinamento intervalado de alta intensidade em esteira sobre a variabilidade da frequência cardíaca e contratilidade cardíaca em ratos diabéticos e não diabéticos. Foi realizado dois testes de exercício máximo, o primeiro no pré-treinamento e o segundo após o treinamento, para determinar a capacidade máxima de exercício. Foram implantados quatro eletrodos subcutâneos para coleta do eletrocardiograma. Os ratos foram divididos em seis grupos: controle sedentário (CS), diabético sedentário (DS), controle treinamento intervalado (CTI), diabético treinamento intervalado (DTI), controle treinamento contínuo (CTC) e diabético treinamento contínuo (CTC). O *diabetes mellitus* foi induzido por estreptozotocina. A intensidade do exercício contínuo foi de 70% do teste de exercício máximo; a intensidade do treinamento intervalado alternou entre 90% e 50% do teste máximo, um minuto para cada intensidade (razão 1:1), por 50 minutos diários, de segunda a sexta-feira, durante 4 semanas. Após a eutanásia, dissecaram-se os corações e foram realizados experimentos utilizando a técnica de coração isolado (Langendorff), posteriormente, os corações foram utilizados para análise histológica. O controle autonômico foi avaliado pela análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca obtida através de eletrocardiograma. A análise de dados demonstrou que houve diminuição da massa corporal nos ratos diabéticos e aumento nos ratos saudáveis. A glicemia foi maior em animais diabéticos, contudo, não houve alteração significativa de glicemia ou pressão arterial após exercício intervalado. Animais submetidos ao exercício intervalado apresentaram maiores incrementos no teste máximo de corrida. A capacidade de exercício em diabéticos foi maior nos animais treinados com exercício intervalado. Não houve alteração significativa pós-exercício contínuo ou intervalado na VFC, contudo, aparentemente o exercício atenuou deterioração da VFC no grupo DM. Em corações isolados, houve redução da FC intrínseca e da contratilidade em animais diabéticos e pequeno impacto do exercício intervalado no dP/dt_{max} . Pode-se concluir que o exercício intervalado não causou impacto negativo na VFC e foi superior ao contínuo em promover maior capacidade de exercício após o protocolo de treinamento.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus; Variabilidade da Frequência Cardíaca; Exercício Intervalado de Alta Intensidade; Contratilidade Cardíaca.

ABSTRACT

Diabetes Mellitus is a metabolic disease which may lead to heart problems. Lately, the effects of various types of physical training and its benefits in patients with diabetes mellitus have been discussed. What are still unknown are the effects of high-intensity interval training on heart rate variability and cardiac contractility in diabetics. Therefore, this study evaluated the effects of high-intensity interval training in treadmill on heart rate variability and cardiac contractility in diabetic and non-diabetic rats. It was performed two maximal exercise tests, the first pre-training and the second after training to assess the maximum exercise capacity. Four subcutaneous electrodes were implanted for electrocardiogram data acquisition. Rats were divided into six groups: sedentary control (SC), sedentary diabetic (SD), interval training control (CTI), diabetic interval training (DTI), continuous training control (CTC) and diabetic continuous training (CTC). Diabetes was induced by streptozotocin. The continuous exercise intensity was 70% of the maximum exercise test; interval training intensity alternated between 90% and 50% of the maximum exercise test with one minute for each (1: 1 ratio), 50 minutes daily, Monday to Friday during 4 weeks. Following the euthanasia, hearts were dissected and experiments using the isolated heart technique (Langendorff) were performed; afterwards, hearts were subjected to histological analysis. The autonomic control was assessed by Heart Rate Variability analysis obtained from electrocardiogram. Data analysis demonstrated a decrease in body mass in diabetic rats and an increase in control rats. Glycemia was higher in diabetics; however, there were no significant alterations in glycemia or blood pressure after interval exercise. Animals submitted to interval training presented higher increases in maximal exercise capacity. The exercise capacity in diabetic animals was higher in the interval training group. There was no significant alteration in HRV after continuous or interval training; however, exercise training apparently attenuated HRV impairment in DM. In isolated hearts, there was intrinsic heart rate reduction and contractility impairment in diabetic animals and mild impact of interval training on dP/dt_{max} . It can be concluded that interval training did not negatively impair HRV and was superior to continuous training in promoting increase in exercise capacity after a training protocol.

Keywords: Diabetes Mellitus; Heart Rate Variability; High Intensity Interval Exercise; Cardiac contractility.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** - Desenho experimental
- FIGURA 2** - Eletrodo subcutâneo implantado
- FIGURA 3** - Exemplo de Eletrocardiograma obtido utilizando eletrodos implantáveis
- FIGURA 4** - Pletismografia de cauda para análises de pressão Arterial Sistólica e Diastólica
- FIGURA 5** - Registro da análise de Pressão Arterial obtida por pletismografia utilizando software Power Lab
- FIGURA 6** - Resultados de pressão desenvolvida (vermelho), dP/dt (azul) e ECG (verde e roxo) em coração isolado.
- FIGURA 7** - Percentual de variação do teste Incremental após o período de treinamento em relação aos valores iniciais
- FIGURA 8** - Pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo (PDVE) em corações isolados (método Langendorff) antes e após perfusão de isoproterenol
- FIGURA 9** - Frequência cardíaca (FC) em corações isolados (método Langendorff) antes e após perfusão de isoproterenol
- FIGURA 10** - Primeira derivada de pressão por tempo, dP/dt máxima e mínima em corações isolados (método Langendorff) antes e após perfusão de isoproterenol
- FIGURA 11** - Duplo produto (DP) em corações isolados (método Langendorff)

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 -** Massa Corporal (g), Glicemia (mg/dL), Pressão Arterial Média (mmHg) e Teste Incremental (m/min), antes e após o treinamento por exercício aeróbico contínuo (TC) ou intervalado de alta intensidade (TI)
- TABELA 2 -** Frequência Cardíaca Intrínseca, SDNN (standard deviation of the R-R interval) desvio padrão dos intervalos R-R normais, rMSSD (root mean square of successive R-R interval differences) raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre os intervalos R-R normais adjacentes, SD1 (standard deviation 1) desvio padrão 1 e SD2 (standard deviation 2) desvio padrão 2 (SD1 e SD2 do plot de poincaré);
- TABELA 3 -** Frequência cardíaca e variabilidade da frequência cardíaca (VFC) analisada no domínio tempo em animais controle (C) e diabéticos (D), antes e após treinamento por exercício aeróbio contínuo (TC) ou intervalado de alta intensidade (TI)

LISTA DE ABREVIATURAS

DM	–	Diabetes Mellitus
OMS	–	Organização Mundial da Saúde
ADA	–	American Diabetes Association
SBD	–	Sociedade Brasileira do Diabetes
DM1	–	Diabetes Mellitus Tipo 1
DM2	–	Diabetes Mellitus Tipo 2
DCVs	–	Doenças Cardiovasculares
IAM	–	Infarto Agudo do Miocárdio
MCD	–	Miocardiopatia Diabética
HAS	–	Hipertensão Arterial Sistêmica
NAC	–	Neuropatia Autonômica Cardíaca
STZ	–	Estreptozotocina
HbA1c	–	Hemoglobina Glicada
IAM	–	Infarto Agudo do Miocárdio
AHA	–	American Heart Association
FC	–	Frequência Cardíaca
SNA	–	Sistema Nervoso Autônomo
VFC	–	Variabilidade da Frequência Cardíaca
NAD	–	Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina
DNA	–	Ácido Desoxirribonucleico
ATP	–	Adenosina Trifosfato
CS	–	Controle Sedentário
DS	–	Diabético Sedentário
CTI	–	Controle Treinamento Intervalado
DTI	–	Diabético Treinamento Intervalado
CTC	–	Controle Treinamento Contínuo
DTC	–	Diabético Treinamento Contínuo
ECG	–	Eletrocardiograma
CEUA/BIO	–	Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas
UFPR	–	Universidade Federal do Paraná
UFRN	–	Universidade Federal do Rio Grande do Norte

DBCA	–	Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos
CONCEA	–	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
FFT	–	Fast Fourier Transform (Transformada Rápida de Fourier)
LF	–	Low Frequency (Baixa Frequência)
HF	–	High Frequency (Alta Frequência)
SD1	–	Standard Deviation 1 (Desvio Padrão 1). Calculado no Plot de Poincaré
SD2	–	Standard Deviation 2 (Desvio Padrão 2). Calculado no Plot de Poincaré
PDVE	–	Pressão Desenvolvida pelo Ventrículo Esquerdo
dP/dt	–	Primeira derivada de pressão por tempo
HE	–	Hematoxilina-eosina
KH	–	Krebs-Henseleit
MMPs	–	Metaloproteinases
PAM	–	Pressão arterial média

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1 <i>Diabetes Mellitus</i>	17
1.2 Contratilidade Cardíaca e Miocardiopatia Diabética	18
1.3 Treinamento Físico	19
1.4 Variabilidade da Frequência Cardíaca	21
1.5 Modelo de Diabetes Mellitus Experimental	23
2. JUSTIFICATIVA	25
3. OBJETIVOS	26
3.1 GERAL	26
3.2 ESPECÍFICOS	26
4.1 Delineamento Experimental	27
4.2 Cirurgia de Implantação de Eletrodos	28
4.3 Mensuração de Eletrocardiograma e Variabilidade da Frequência Cardíaca	29
4.4 Aferição da Pressão Arterial	30
4.5 Indução do Diabetes Mellitus por Estreptozotocina	31
4.6 Protocolo de Treinamento Físico	32
4.7 Coração Isolado (Técnica de Langendorff)	33
4.8 Análise Estatística	34
5. RESULTADOS	35
6. DISCUSSÃO	47
7. CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS	54
APÊNDICE	60

1. INTRODUÇÃO

1.1 *Diabetes Mellitus*

A *Diabetes Mellitus* (DM) é uma doença endócrina, caracterizada como um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos, onde o aumento anormal da glicemia em jejum ou pós-prandial é o principal sinal da doença, consequência da insuficiência de secreção do hormônio insulina, defeito na ação da insulina ou os dois. A classificação proposta pela Organização Mundial da Saúde (OMS), pela Associação Americana do Diabetes (ADA) e pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) apresenta quatro classes clínicas. O DM tipo 1, que tem como fatores de risco: história familiar, genética, infecção, dentre outros fatores. Na DM1 a reposição de insulina é essencial uma vez que o defeito primário está na síntese e secreção inadequada de insulina. O DM tipo 2, que apresenta como fatores de risco a obesidade, sedentarismo, fatores genéticos, nutrição inadequada, história familiar de DM e idade. Neste caso, há resistência periférica à ação da insulina e progressivamente determinar alterações na secreção do hormônio. As outras duas classes de diabetes são descritas como: outros tipos específicos de DM e DM gestacional. Ainda há duas categorias, referidas como pré-diabetes, que são a glicemia de jejum aumentada e a intolerância à glicose. Essas categorias não são entidades clínicas, mas fatores de risco para o desenvolvimento de DM e doenças cardiovasculares (DCVs) (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2014; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2000).

A DM é uma doença epidêmica no mundo, apresentando incidência maior a cada ano que se passa. Estimou-se em 1985 haver 30 milhões de adultos com esta patologia, já em 2002 estimou-se 173 milhões e hoje estima-se por volta de 387 milhões de adultos. Já no Brasil os dados epidemiológicos são escassos, porém em 1980 estimava-se prevalência em 7,6% na população adulta. Dados recentes descreve a existência de 11,0 milhões de adultos acometidos pelo DM entre 20 e 70 anos. (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2014). Apesar da maior prevalência de DM2, a prevalência de DM1 tem crescido consideravelmente, chegando em 2015 a mais de meio milhão de crianças

acometidas (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2015; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2016)

Os indivíduos com DM têm risco aumentado de desenvolvimento de algumas complicações comumente associadas à doença. Essas complicações manifestam-se como doenças cardiovasculares, cerebrovasculares, doenças renais, neuropatias, bem como complicações gestacionais (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2015). O DM apresenta alta taxa de morbidade e mortalidade que tem como principal causa as doenças cardiovasculares (DESHPANDE *et al.*, 2008; DYCK *et al.*, 1993).

A Neuropatia Autonômica Cardíaca (NAC) também aparece como uma complicação importante nos pacientes com DM. Em uma metanálise feita por Maser *et al.* (2003), a mortalidade para pacientes com NAC foi significativamente maior quando comparado aos pacientes sem NAC, ambos acometidos de DM previamente. Ainda sobre esta metanálise, houve forte associação da NAC com a mortalidade destes indivíduos em 10 estudos.

A NAC tem sido associada ainda com arritmias cardíacas, que por sua vez tem alta relação com morte súbita e associada com altos índices de morbidade e mortalidade (MOSTARDA *et al.*, 2014).

Pacientes com maior risco de morte súbita são aqueles que, além de doenças que oferecem risco de morte, não praticam atividade física, sendo a inatividade física um preditor independente para mortalidade (JONATHAN MYERS *et al.*, 2002; HALCOX *et al.*, 2002). Portanto, o sedentarismo pode aumentar o risco de morbidade e mortalidade, sobretudo em pacientes já acometidos por alguma doença. Desta forma, pacientes com DCVs que não praticam atividade física estão mais propensos a morte súbita, assim como a novos eventos cardiovasculares (HARAM *et al.*, 2009).

1.2 Contratilidade Cardíaca e Miocardiopatia Diabética

Estudos recentes associam alterações patológicas da contratilidade cardíaca ao DM, com Relação Pressão-Volume prejudicada, causando depressão da função ventricular, sugerindo que a alteração primária de contratilidade é a perda da capacidade satisfatória de contração ou distúrbio no relaxamento do miocárdio (MALHOTRA; SANGHI, 1997). Em estudo de

Cagalinec *et al.*, (2013) com ratos diabéticos por injeção de estreptozotocina (STZ), ao avaliar o comprimento, largura e espessura de miócitos do ventrículo esquerdo após 7 dias de indução do DM, os autores observaram diminuição significativa do comprimento dos miócitos de ratos diabéticos quando comparados ao grupo controle. Houve também diminuição significativa da largura destes miócitos quando comparados os mesmos grupos. Entretanto, não houve diferença significativa da espessura dos miócitos de ventrículo esquerdo. Desta maneira os autores sugerem que o modelo de ratos diabéticos por STZ se assemelha à miocardiopatia diabética (MCD) em humanos, pois implica em mudanças morfológicas e de contratilidade cardíaca em estágios iniciais do DM.

A MCD foi primeiramente descrita por Rubler e colaboradores em 1972, sendo definida como anormalidades funcionais e estruturais do miocárdio em pacientes diabéticos sem doença arterial coronariana e HAS, em um estudo *post mortem* (RUBLER *et al.*, 1972). Esta patologia acomete aproximadamente 30% dos pacientes com DM1, segundo um estudo de revisão que agrupou estudos sobre MCD em indivíduos com DM (OKOSHI; MUZIO; OKOSHI, 2007). Em modelos de DM1, induzido por STZ, têm sido descrito perda de proteínas contráteis e alteração na função da SERCA-2 nos cardiomiócitos, com diminuição da recaptação do cálcio pelo retículo e consequente sobrecarga de cálcio intracelular (MIKI; YUDA; KOUZU, 2013).

1.3 Treinamento Físico

O exercício físico pode atuar na prevenção e tratamento do DM, sobretudo para pessoas com predisposição para desenvolvê-la, trazendo benefícios na sensibilidade à insulina e na redução de peso, que são dois fatores predisponentes para o desenvolvimento desta patologia ou ainda fatores que agravam o quadro em um paciente já acometido pela DM. Portanto, o exercício físico pode atuar na melhora da condição aeróbica por possíveis melhoras na função mitocondrial e capilarização muscular, uma vez que há comprometimento destas funções nos pacientes com DM (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2014).

Os exercícios físicos são recomendados no controle da obesidade, da hipertensão arterial, dislipidemia e no combate ao sedentarismo, prevenindo

assim o DM e consequentemente as DCVs em decorrência do DM. O exercício físico também reduz a incidência de DM, sobretudo quando associado com alimentação saudável (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2014).

O exercício intervalado consiste em alternar momentos de alta intensidade (período ativo) com períodos de baixa intensidade ou mesmo repouso (período passivo), com o objetivo de induzir a adaptação aeróbica fisiológica, prevenindo eventos patológicos agudos e crônicos (GUIRAUD *et al.*, 2012). Segundo recomendações da American Heart Association (AHA) e da ADA deve-se praticar 150 minutos de atividade física aeróbica de intensidade moderada por semana ou, pelo menos, 90 minutos de atividade aeróbica vigorosa (BUSE *et al.*, 2007). Entretanto, a SBD (2016), recomenda 150 minutos semanais para exercício moderado e 75 minutos semanais para exercícios de alta intensidade, onde este último tem demonstrado maior impacto no aumento do condicionamento aeróbico e na redução da hemoglobina glicada (HbA1c). Estes exercícios podem ser de dois tipos, exercícios constantes ou contínuos (a mesma intensidade) ou ainda exercícios intervalados (alternando diferentes intensidades de exercícios) (SBD, 2016). No entanto, as diretrizes citadas não fornecem recomendações específicas para a prescrição do exercício intervalado ou os classificam como de alta evidência para os efeitos mencionados.

Em estudo experimental, Pereira *et al.* (2013) estudaram o exercício aeróbico intervalado e contínuo em ratos saudáveis, os quais demonstraram melhora nos grupos que realizaram exercícios, em relação às variáveis, do grupo controle (sedentário). Na análise da atividade da citrato sintase (capacidade oxidativa do músculo esquelético) pós-exercício, observou-se que os grupos treinados expressaram maior atividade em comparação com o grupo sedentário, e ainda que o grupo de exercício intervalado apresentou maior capacidade oxidativa que o grupo de exercício contínuo. Porém, em relação a densidade capilar no ventrículo esquerdo, não houve diferença significativa entre os grupos treinados. O estudo mostrou ainda que no grupo que praticou exercício aeróbico intervalado houve maior angiogênese quando comparado ao grupo com realização de exercício contínuo.

Em pacientes pós infarto agudo do miocárdio (IAM) submetidos ao exercício físico, seja moderado ou intenso, estudos demonstram efeitos reversivos parciais do remodelamento cardíaco patológico com melhora na

bioquímica da contração muscular cardíaca e consequentemente na função diastólica e sistólica, além da prevenção de novas patologias associadas (HAYKOWSKY *et al.*, 2011).

Já no estudo de Gris  *et al.* (2016) foi demonstrado que o grupo DM1 que praticou exercício intervalado de alta intensidade por 10 semanas, não apresentou melhora significativa na FC, pressão arterial média, variabilidade da FC, dentre outros aspectos avaliados. Entretanto, os autores concl ram que o exercício intervalado de alta intensidade foi capaz de amenizar a progressão da neuropatia auton mica cardíaca, patologia secundária comum em modelos de DM induzido por estreptozotocina,

1.4 Variabilidade da Frequência Cardíaca

O Sistema Nervoso Aut nomo (SNA) Simpático e Parassimpático, dentre tantas funções, apresenta a capacidade de controlar da frequência e contratilidade cardíaca e a resistência vascular, com consequentes efeitos no débito cardíaco e pressão arterial. De maneira simplificada, o SNA simpático é um estimulante das funções cardiovasculares, aumentando a FC, induzindo vasoconstrição e função inotrópica positiva. Em contraponto, o SNA parassimpático influencia na diminuição da FC, causa efeito inotrópico negativo discreto e consequente diminuição do débito cardíaco, dentre outras funções (VANDERLEI *et al.*, 2009; PUMPRLA *et al.*, 2002).

A Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC) refere-se às oscilações dos intervalos entre batimentos cardíacos consecutivos (intervalos R-R normais, também descritos como intervalos N-N), que estão relacionadas às influências do SNA. Representa um dos mais promissores marcadores da atuação auton mica no sistema cardíaco, de fácil captação e não invasivo, baixo custo e alta acurácia. Este método demonstra ser um precioso modo de avaliação do SNA em sua atuação cardíaca, tanto em condições normais como patológicas de indivíduos, pelos seus profissionais da saúde (VANDERLEI *et al.*, 2009).

O primeiro dado relevante sobre VFC se deu em 1965, quando Hon e Lee notaram que o sofrimento fetal era precedido de alterações dos intervalos dos batimentos cardíacos (HON, 1966). Com o passar dos anos vieram novas descobertas, como a descoberta de uma nova análise a partir do ritmo fisiológico

embutido no sinal da frequência cardíaca, batimento a batimento (EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY *et al.*, 1996). Hoje, sabe-se que os principais métodos de análise da VFC são os métodos lineares, que estão divididos em domínio da frequência (índices estatísticos e geométricos) e domínio de tempo, e não lineares.

Em análises no domínio do tempo, utilizam-se dados em milissegundos de cada intervalo R-R normal (média, desvio padrão e índices derivados do histograma ou do mapa de coordenadas cartesianas dos intervalos R-R). Os índices estatísticos calculados no domínio do tempo são: SDNN - Desvio padrão dos intervalos RR normais, expresso em ms; SDANN - Desvio padrão das médias dos intervalos RR normais, a cada 5 minutos; SDNNi - É a média do desvio padrão dos intervalos RR normais a cada 5 minutos, expresso em ms; rMSSD - É a raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes; pNN50 – porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50ms. Os índices representam as atividades simpáticas e parassimpáticas, porém não permite distingui-los (PUMPRLA *et al.*, 2002).

Os índices rMSSD e pNN50 representam a atividade parassimpática, pois são calculados a partir de intervalos R-R adjacentes. Uma possibilidade de análise de intervalos R-R no domínio do tempo são os métodos geométricos, conhecidos como índice triangular e plotagem de Lorenz ou chamado também de Plot de Poincaré. Os métodos geométricos apresentam os intervalos RR em padrões geométricos e várias aproximações são usadas para derivar as medidas de VFC a partir delas (VANDERLEI *et al.*, 2009)

O método de análise não linear de VFC tenta quantificar a estrutura ou a complexidade de uma série temporal de intervalo R-R. Um grande número de medidas não lineares têm sido estudadas, mas são poucas que têm mostrado eficácia na estratificação de dados (KLEIGER; STEIN; BIGGER, 2005).

Já nas análises lineares no domínio da frequência, temos como a mais utilizada a densidade espectral de potência. As principais variáveis de análise da análise no domínio da frequência são: Alta Frequência (*High Frequency - HF*) que diz respeito à modulação respiratória e traduz a atuação do Nervo Vago no coração; Baixa Frequência (*Low Frequency - LF*) que traduz a atuação concomitante simpátovagal no coração, porém com predominância simpática;

Muito Baixa Frequência (*Very Low Frequency* - *VLf*) e Ultra Baixa Frequência (*Ultra Low Frequency* - *ULf*) que são variáveis cujo entendimento fisiológico ainda não está claro, mas que parece estar relacionado com o sistema renina-angiotensina-aldosterona, à termorregulação e ao tônus vasomotor periférico; A relação *LF/HF*, que traduz o balanço simpátovagal no coração.

Redução na VFC está presente em pessoas com pouca capacidade de adaptação ao estresse, seja este estresse advindo de uma patologia ou causado por exercícios físicos. O inverso é verdadeiro, uma VFC maior indica maior capacidade adaptativa ao estresse. (PAPAIOANNOU *et al.*, 2013).

Num estudo de KUDAT *et al.* (2006), foi estudada a VFC em pacientes diabéticos e suas comorbidades. Percebeu-se que os pacientes que tinham mais morbidades, o que aumenta o risco de mortalidade consideravelmente, apresentavam piores índices de VFC, sendo esta última um detector importante, neste caso específico, para predizer a morbimortalidade.

1.5 Modelo de Diabetes Mellitus Experimental

A estreptozotocina (STZ) (2-deoxi-2-(3-(metil-3-nitrosoureido)-D-glicopirranose) é um análogo de glicose sintetizada pelo fungo *Streptomyces achromogenes*, e é utilizada para induzir o *diabetes mellitus* experimental. Aplica-se por via intraperitoneal ou intravenosa. Em seguida a droga é captada pelas células β -pancreáticas através do transportador GLUT2, então, células produtoras de insulina que não expressam esse transportador são resistentes à STZ. Mecanismos são propostos para a citotoxicidade produzida pela STZ. A alcalinização do DNA celular e subsequente ativação da poli-ADP ribose sintetase causam depleção rápida e letal de NAD nas células pancreáticas, com subsequente redução no nível de ATP e posterior inibição da síntese e secreção da insulina.

O modelo de diabetes induzido por STZ é um dos mais utilizados atualmente devido à redução expressiva de células β -pancreáticas, mimetizando o DM1, mas também sendo observado redução na sensibilidade periférica à insulina, característica observada no DM2 (TAKADA *et al.*, 2007; SILVA; SILVA; LIMA, 2011).

2. JUSTIFICATIVA

O exercício aeróbico contínuo tem demonstrado efetividade no controle glicêmico, prevenção de DCVs e, portanto, melhora na qualidade de vida em pacientes diabéticos. Contudo, os dados são escassos quando se trata de exercícios intervalados de alta intensidade.

Faz-se necessário mais pesquisas para elucidação dos efeitos benéficos e/ou maléficos do exercício intervalado em comparação aos exercícios convencionais (contínuos).

A partir destas análises, observamos a necessidade de realizar um estudo experimental e controlado com o objetivo de avaliar a efetividade e a segurança do exercício intervalado em substituição ao exercício contínuo para diabéticos.

3. OBJETIVOS

3.1 GERAL

Analisar os efeitos de um protocolo de treinamento intervalado de alta intensidade sobre a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e sobre a contratilidade cardíaca em ratos diabéticos.

3.2 ESPECÍFICOS

1. Comparar os efeitos do programa de exercício intervalado com o programa de exercício contínuo sobre a VFC;
2. Comparar os efeitos do programa de exercício intervalado com o programa de exercício contínuo sobre variáveis representativas da contratilidade cardíaca;
3. Analisar e comparar os efeitos dos protocolos de exercício supracitados sobre a Massa Corporal, Glicemia, Pressão Arterial e Capacidade de exercício determinada por teste incremental máximo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento Experimental

Um grupo de 66 ratos da cepa *Wistar*, com idade de 90 dias de vida e peso corporal entre 250 a 300 gramas, foram utilizados. Foram divididos em 6 grupos, sendo eles: Controle Sedentário (CS, n=10), Diabético Sedentário (DS, n=11), Controle Treinamento Intervalado (CTI, n=11), Diabético Treinamento Intervalado (DTI, n=14), Controle Treinamento Contínuo (CTC, n=10) e Diabético Treinamento Contínuo (DTC, n=10). O treinamento físico foi realizado durante quatro semanas, precedido de uma semana para realização da indução do DM e colocação de eletrodos para coleta de Eletrocardiograma (ECG) e mais uma semana para adaptação, somando o total de 6 semanas de experimento e 4 de exercício propriamente dito (Figura 01). Os exercícios foram realizados em Esteira para Múltiplos Roedores, marca AVS (São Paulo, Brasil).

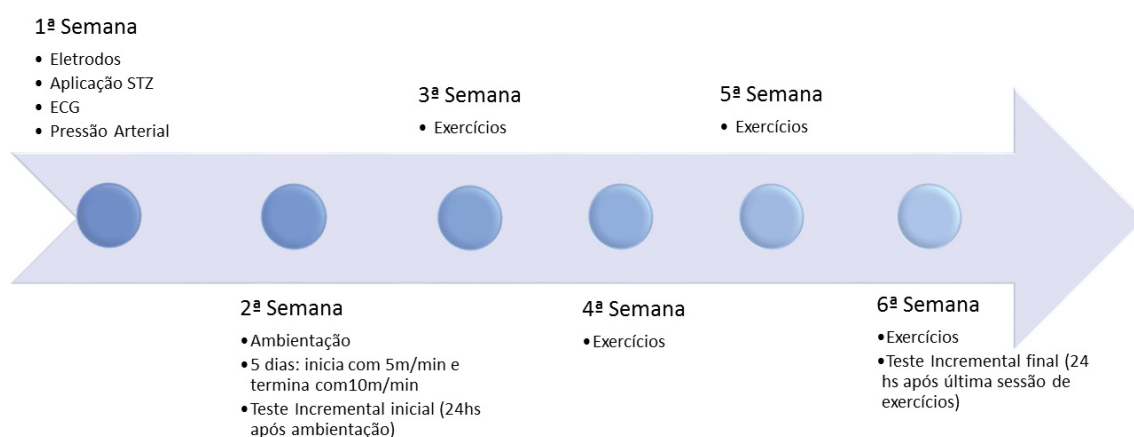


Figura 1: Delineamento experimental

Os animais foram mantidos em caixas com livre acesso a ração e água, em temperatura mantida de 18°C a 21°C, com ciclo claro-escuro de 12:12 horas. Os animais foram ambientados por 30 dias neste ciclo antes do início do estudo. Os ratos foram provenientes do Biotério do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná. O presente projeto seguiu as recomendações éticas determinadas pela lei 11.794 de 2008 e recomendações do comitê de ética no uso de animais da Universidade Federal do Paraná.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO – UFPR) com número de aprovação 866, de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos (DBCA) estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com as Normas Internacionais para a experimentação animal.

4.2 Cirurgia de Implantação de Eletrodos

Para cirurgia de implantação dos eletrodos, os animais foram anestesiados com 80mg/kg de cetamina, 10 mg/kg de xilazina (com aumento de 10% da dose durante o procedimento baseado na resposta reflexa ao pinçamento das patas traseiras).

Foram utilizados eletrodos subcutâneos tipo “brincos” (aço inoxidável de 0,05 mm) na região posterior e abaixo a linha de inserção das patas dos animais (MARQUES NETO *et al.*, 2013). A implantação foi realizada através de uma agulha guia (16G) e fixado num formato de um nó entrelaçado (FIGURA 2) de maneira que as derivações do plano frontal de um ECG convencional pudessem ser avaliadas. O monitoramento do sinal eletrocardiográfico foi feito em gaiola individualizada, com os ratos sem sedação, utilizando-se a segunda derivação do ECG para cálculo da variabilidade da frequência cardíaca.

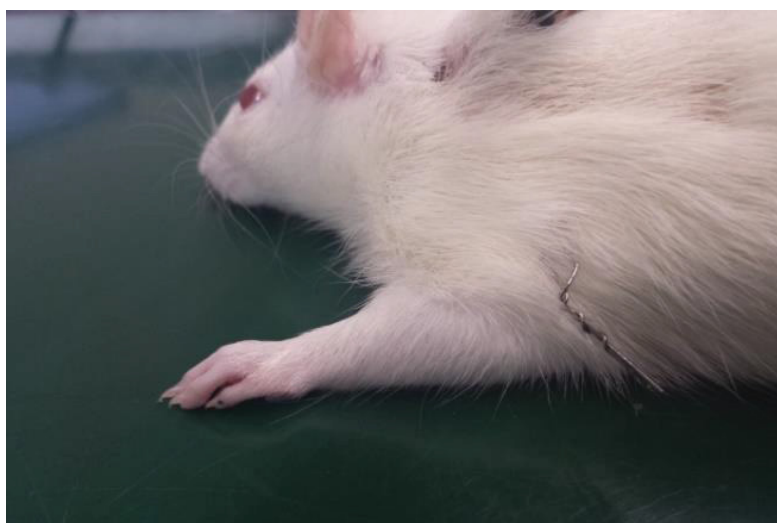


Figura 2: Eletrodo subcutâneo implantado
Fonte: Laboratório de Fisiologia e Fisiopatologia Cardiovascular - UFPR

4.3 Mensuração de Eletrocardiograma e Variabilidade da Frequência Cardíaca

Para análise dos sinais de ECG utilizamos o software LabChart 7.0 (AD Instruments) e Kubius HRV (versão 2.0 MATLAB, MathWorks Inc., Kuopio, Finland). Foram mensurados os intervalos R-R. Também foi mensurada a amplitude do complexo QRS. Um exemplo de eletrocargiograma (ECG) coletado utilizando eletrodos implantáveis está representada na FIGURA 3.

Foram realizadas oito análises de ECG para cada animal. A primeira na sedação após colocação dos eletrodos, segunda antes do teste máximo inicial, terceira e quarta antes e após a primeira sessão de exercício (verificação dos efeitos agudos dos exercícios) e repetido uma vez por semana (sextas-feiras) durante as 4 semanas do protocolo de exercício físico. Para evitar alterações circadianas todas as coletas dos sinais elétricos cardíacos foram realizadas no mesmo período, matutino.

Os intervalos R-R (N-N) foram mensurados e as medidas de VFC, tanto do domínio tempo quanto do domínio frequência, foram calculadas. Para o domínio do tempo foram analisados: o desvio padrão dos intervalos R-R (SDNN); a raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre os intervalos R-R normais adjacentes (rMSSD). Para o domínio frequência, foi utilizada a transformada Rápida de Fourier (FFT) para analisarmos os seguintes parâmetros: baixa frequência - low frequency (LF), alta frequência - high frequency (HF); Total Power (soma da Very Low Frequency - VLF -, mais LF mais o HF) e a razão LF/HF (EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY *et al.*, 1996; RAMAEKERS *et al.*, 1998). Também foi calculado os valores de desvio padrão - Standard Deviation 1 (SD1) e Standard Deviation 2 (SD2) do Plot de Poincaré.

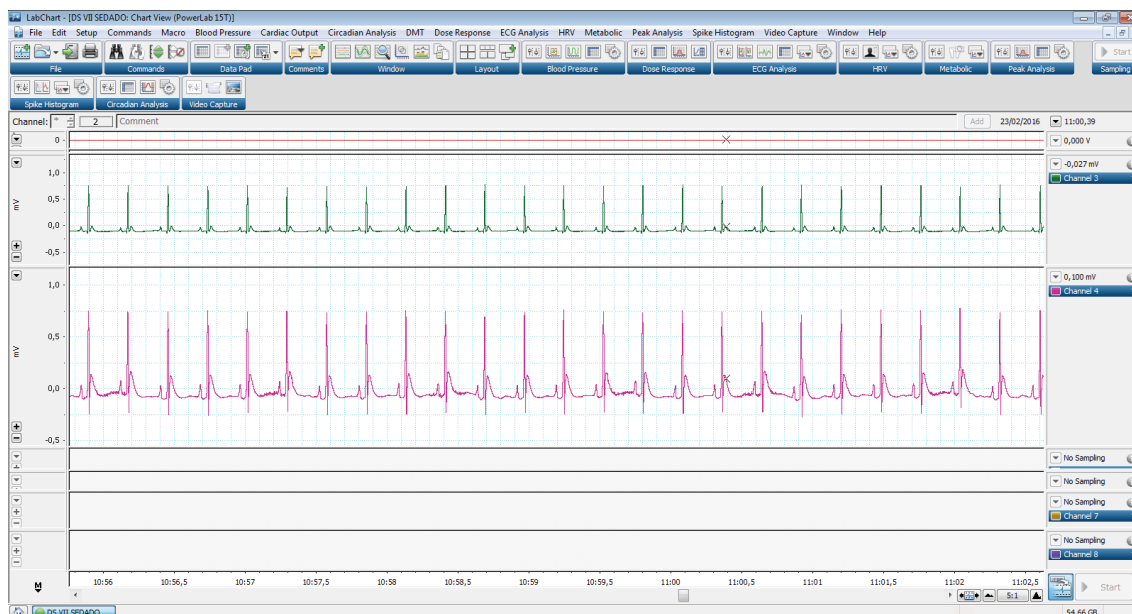


Figura 3: Exemplo de Eletrocardiograma obtido utilizando eletrodos implantáveis.
Fonte: Laboratório de Fisiologia e Fisiopatologia Cardiovascular - UFPR

Após a medida serial de VFC (ao final de todos os experimentos) os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (100mg/Kg) e xilazina (20mg/Kg) e exsanguinados. Os corações foram dissecados e experimentos funcionais foram realizados pela técnica de coração isolado perfundido retrogradamente (Langendorff). As amostras sanguíneas e de tecidos (descritos abaixo) foram retirados e acondicionadas propriamente para realização de estudos histológicos e bioquímicos.

4.4 Aferição da Pressão Arterial

A pressão arterial média foi mensurada através da pletismografia de cauda (NIPB Controller, AD Instruments), devidamente ajustado na cauda do rato (FIGURA 4). Foram realizadas duas mensurações, a primeira antes do treinamento físico e outra ao final de todo o protocolo de treinamento. Os animais estavam sob sedação superficial (não responsivo ao pinçamento da pele) e o valor representa a média de ao menos 3 mensurações em cada animal (FIGURA 5).



Figura 4. Pletismografia de Cauda para análises de Pressão Arterial Sistólica e Diastólica.
Fonte: Laboratório de Fisiologia e Fisiopatologia Cardiovascular - UFPR

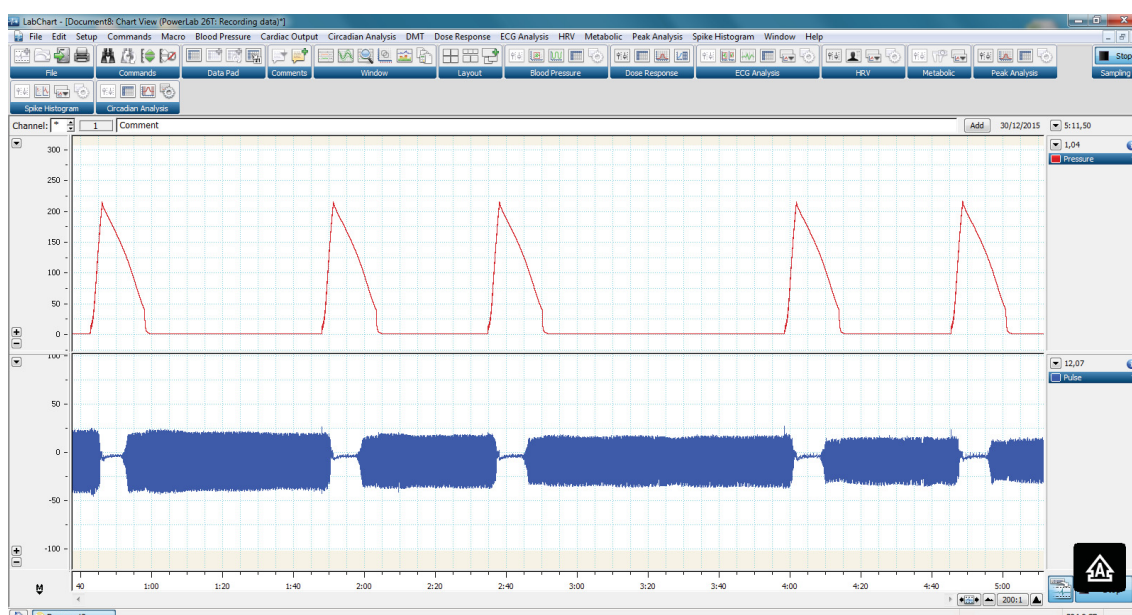


Figura 5. Registro da análise de Pressão Arterial obtida por pletismografia utilizando software Power Lab.

4.5 Indução do Diabetes Mellitus por Estreptozotocina

A indução, que será descrita adiante, se deu na primeira semana de experimento, semana esta que antecedeu a semana de adaptação, que por sua vez antecedeu as quatro semanas de exercício efetivo. Desta forma o experimento total durou 6 semanas.

Os ratos foram mantidos em jejum por 14 horas previamente à aplicação das injeções. Durante a anestesia (80mg/kg de cetamina e 10mg/kg de xilazina) para cirurgia de implantação de eletrodos subcutâneos, o DM foi induzido por estreptozotocina (STZ) na dose de 45mg/kg, dissolvido em 0,2 ml de tampão citrato a 0,01M, pH 4,5, via endovenosa (veia peniana). No grupo controle foi

injetado apenas tampão citrato. A glicemia capilar foi mensurada antes da aplicação da STZ para certificação de que todos os ratos eram saudáveis previamente, mensurada para a confirmação do DM após 12-13 dias (primeiro dia de treinamento propriamente dito), repetida no 15^a dia de treinamento (1^a dia da 3^a semana de exercício) e ao final do treinamento, através de um glicosímetro (Accutrend, Roche) utilizando gota sanguínea retirada da cauda do animal. Para análise da glicemia capilar na confirmação do DM, no 15^o dia e ao final do experimento, os animais permaneciam por 6 horas em jejum. A avaliação dos sinais eletrocardiográficos e da VFC ocorreu desde a indução do *DM* até o final do experimento (eutanásia), conforme descrito previamente.

4.6 Protocolo de Treinamento Físico

O protocolo de treinamento foi realizado por período de quatro semanas em esteira motorizada, cinco dias por semana e sem inclinação, constando de 50 minutos diários. Os primeiros 5 minutos foram dedicados ao aquecimento, que se deu: 1 minuto a 3 m/min., 2 minutos seguintes em 5 m/min. e os dois últimos minutos do aquecimento em 7m/min. O desaquecimento obedeceu ao protocolo regressivo similar ao aquecimento, com mesma intensidade e duração. Os outros 40 minutos foram de exercício conforme intensidade descrita adiante.

Uma semana anterior ao início efetivo do treinamento, os ratos foram ambientados na esteira, com aumento diário de 1m/min, partindo de velocidade inicial de 5m/min., iniciando em uma segunda-feira. No sábado desta semana de adaptação, ou seja, após 24 horas do fim da adaptação, foi realizado o teste de exercício máximo em cada rato para determinar a capacidade máxima de corrida (teste de esforço máximo modificado) (PEREIRA et al., 2013). O teste consistiu em correr na esteira ergométrica, com velocidade inicial de 3m/min., com aumento de 1m/min. a cada 60 segundos. O teste foi encerrado quando o rato não conseguia mais acompanhar a corrida, rejeitando correr apesar do estímulo físico na região posterior do animal (estímulo realizado com a mão, não por choque). A velocidade em que o teste finalizou atribuímos como a capacidade máxima de corrida do animal e a partir destes dados os grupos de animais treinados com exercício aeróbio contínuo realizaram o treinamento, correndo a 70% da capacidade máxima de corrida, durante 40 minutos, enquanto os animais

do treinamento intervalado correram em ciclos de 1 minuto a 90% da capacidade máxima alternado por 1 minuto a 50% da capacidade máxima, também durante 40 minutos. Dessa forma, o volume (tempo, intensidade e frequência) de exercício foi o mesmo para ambos os grupos. Os animais sedentários ficavam nas esteiras ergométricas por 50 minutos diários, 5 dias por semana, da mesma forma dos demais animais, porém não praticavam exercício algum, pois a esteira permanecia parada (PEREIRA, *et al.*, 2013). O teste de esforço máximo foi repetido ao final do experimento, 24 horas após o último dia de treinamento para avaliar as alterações na capacidade de esforço induzidas pelo treinamento físico.

4.7 Coração Isolado (Técnica de Langendorff)

Os corações foram dissecados e perfundidos retrogradamente através de uma cânula, fixada no coto da artéria aorta, com solução de *Krebs-Henseleit* (KH) continuamente oxigenada (carbogênio: 5% CO₂/95% O₂) e mantida em temperatura constante de 37°C e pressão de perfusão constante de 60 mm/Hg), mantendo o coração imerso na solução supracitada, de idêntica composição (DIAS *et al.*, 2006).

Os registros de pressão, derivadas e sinais eletrocardiográficos foram obtidos empregando a unidade Power Lab 26T conectado a um computador no módulo de ECG e com o uso do software Cardio Axis (FIGURA 6). Foram mensurados os valores de pressão intracavitária de ventrículo esquerdo (PDVE) e derivadas a frequência cardíaca intrínseca e índices de contratilidade (dP/dt mínimo e máximo), além do duplo produto (PDVE x FC intrínseca em Hertz), no *baseline* (máximo da força de Frank-Starling) e com Isoproterenol (concentração de 100nM), utilizando o mesmo equipamento.

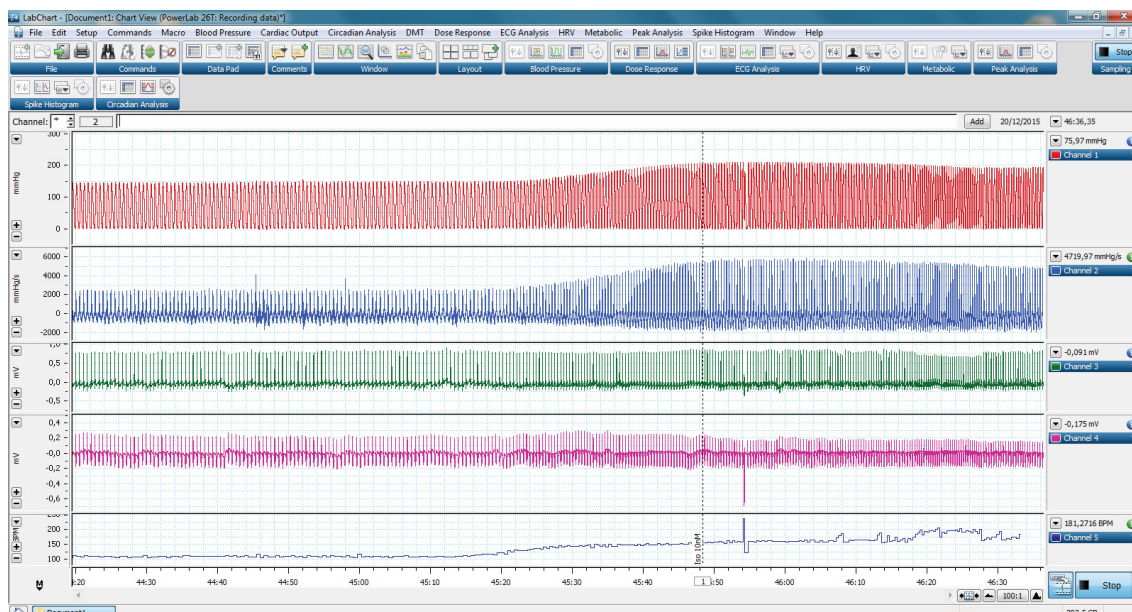


Figura 6. Resultados de pressão desenvolvida (vermelho), dP/dt (azul) e ECG (verde e roxo) em coração isolado. O experimento representa dados de um animal (CS) durante o estado de equilíbrio e após perfusão de Isoproterenol (100nM).

Ao final do experimento os corações foram fixados em formalina, progressivamente desidratados em álcool e emblocados em parafina para posteriores análises histológicas.

4.8 Análise Estatística

A normalidade dos dados foi testada através do teste de Shapiro-Wilk. A comparação da média dos dados antropométricos, glicemia, variáveis relacionadas à VFC e contratilidade cardíaca foi realizada utilizando-se o teste de análise de variância-ANOVA de uma via e o pós-teste de Tukey. O teste t paramétrico foi utilizado para comparação de médias intragrupo, entre os momentos pré-treinamento e pós-treinamento. Foi considerado o valor de $p < 0,05$ como critério de significância estatística.

5. RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta os dados de massa corporal, glicemia e do teste incremental antes e após a aplicação do protocolo de exercício físico. Os valores descritos de p referem-se ao teste t pareado entre os momentos inicial (pré-treinamento) e final (pós-treinamento). Os símbolos representam o teste de análise de variância (ANOVA) entre os grupos para os momentos pré ou pós-treinamento.

Como observado na Tabela 1, houve aumento significativo da massa corporal em animais controles, tanto sedentário quanto exercitados enquanto em animais diabéticos houve perda de massa corporal, exceto no grupo DTC; provavelmente devido à pequena diferença inicial de massa corporal em relação ao grupo DS. Após o programa de exercício, animais controle (incluindo o grupo controle sedentário) apresentaram maior massa corporal comparado aos animais diabéticos.

Em relação à glicemia, os valores pré-exercício em todos os grupos diabéticos foram estatisticamente maiores que os grupos controles, como esperado, não sendo observada diferença estatística entre grupos de animais diabéticos. Isto confirma a efetividade da indução do DM utilizando estreptozotocina. Ao final do programa de exercício, não foi observado alterações significativas dos valores de glicemia capilar nos animais diabéticos, em relação à glicemia inicial.

No que diz respeito à mortalidade, três animais do grupo DTI morreram durante os experimentos, sendo um deles em decorrência do procedimento de indução do DM (24 horas depois da injeção de STZ) e dois propriamente durante o treinamento intervalado, sendo que as mortes ocorreram durante a terceira e quarta semanas de treinamento. Um animal do grupo DS morreu na segunda semana de exercício (no caso deste grupo, apenas estando por 50 minutos diários na esteira, sem realizar exercício) e um animal do grupo CTI durante procedimento anestésico na colocação dos eletrodos, portanto, previamente ao início do treinamento.

A análise das pressões arteriais média (PAM) não apontou diferença estatística entre os grupos; contudo, foi possível observar aumento da PAM nos grupos CS, CTI e DTC em relação aos valores basais.

Em relação ao teste incremental inicial, houve menores valores absolutos nos grupos diabéticos, porém apenas um dos grupos, no caso DTI, apresentou média significativamente menor comparado ao CS e CTI, decorrentes de uma maior variabilidade intragrupo. É importante salientar que a aplicação de STZ ocorreu 13 dias antes do teste incremental inicial (portanto inicia-se a repercussão dos efeitos do DM na capacidade de exercício nestes animais justificando a tendência a menor capacidade de exercício).

Porém, quando o teste incremental foi repetido após 4 semanas de treinamento contínuo e intervalado de alta intensidade, observamos aumento significativo da capacidade de exercício em todos os grupos exercitados em relação à capacidade de exercício pré-treinamento, inclusive em diabéticos. Enquanto isso, animais não-treinados, quando testados 4 semanas depois, apresentam diminuição da capacidade máxima de exercício. Animais que realizaram o exercício intervalado de alta intensidade apresentaram maiores valores no teste incremental ao final do tratamento. Como observado, animais CTI e CTC apresentaram maiores valores em relação ao grupo CS e DS. Em relação aos diabéticos, animais do grupo DTI e DTC apresentaram valores maiores que o DS; contudo, apenas DTI diferiu estatisticamente do grupo CS. Comparativamente, animais submetidos ao exercício intervalado obtiveram valores absolutos maiores do que do exercício contínuo, sendo diferentes estatisticamente as médias entre CTI e CTC e DTI e DTC.

	CS (n=10)	DS (n=10)	CTI (n=10)	DTI (n=10)	CTC (n=10)	DTC (n=10)
Massa corporal (g)						
Pré	266,5 ± 8,4	281±22,5	261,1±22,6	259,8 ± 19,3	261 ± 26,2	250,8 ± 16,7 ^b
Pós	342,6 ± 3,2 ^{b df}	257,4± 33,2	325,4±16,3 ^{b df}	229,9 ± 24,3	320,3 ± 31,7 ^{b df}	247 ± 44,2
Valor p	<0,0001	0,0090	<0,0001	0,0085	<0,0001	0,8086
Glicemia (mg/dL)						
Pré	94,6 ± 10,3	462,9 ± 61,2 ^{ace}	106,3 ± 10,3	489,6 ± 72,2 ^{ace}	102,5 ± 3,7	450 ± 143,5 ^{ace}
Pós	94,3 ± 5,5	504,2 ± 66,5 ^{ace}	106 ± 9	521,9 ± 64,1 ^{ace}	104,1 ± 7,3	542 ± 60,6 ^{ace}
Valor p	0,9376	0,1159	0,9547	0,3135	0,5935	0,0836
Pressão Arterial						
Média (mmHg)						
Pré	43,4 ± 11,9	53,4 ± 25,7	49,2 ± 18,6	49,28 ± 12,2	54,8 ± 17,9	47,7 ± 12,4
Pós	52,6 ± 13,2	53,6 ± 5,5	58,9 ± 29,4	48,1 ± 9,7	57,5 ± 21,1	60,6 ± 36,1
Valor p	0,0956	0,8596	0,4478	0,4755	0,4722	0,3342
Pressão Sistólica						
(mmHg)						
Pré	122,6 ± 22,3	126 ± 18,1	120,4 ± 40,9	110,3 ± 29,9	123,4 ± 24,7	124,3 ± 33,9
Pós	133 ± 18,7	115,1 ± 27,9	155 ± 39,6	122,4 ± 19,3	126,2 ± 29,1	127,5 ± 46,9
Valor p	0,3020	0,2396	0,0481	0,1276	0,3350	0,8760
Pressão Diastólica						
(mmHg)						
Pré	63,4 ± 12	71,4 ± 22,7	66,9 ± 21,6	64,4 ± 12,2	71,8 ± 16,6	66,7 ± 17
Pós	72,5 ± 9,4	68,9 ± 8,3	82,7 ± 28	66,5 ± 11,8	74,6 ± 21,6	77,2 ± 38,1

<i>Valor p</i>	0,0840	0,5574	0,1947	0,1907	0,4107	0,4655
Teste Incremental						
(m/min.)						
Pré	27,2 ± 2,4 ^d	25,4 ± 2,716	27 ± 3,091 ^d	22,9 ± 3,446	26,1 ± 2,846	23,9 ± 1,595
Pós	24,7 ± 2,3	21,7 ± 4,6	41,1 ± 4,932 ^{a b e f}	35,6 ± 5,948 ^{a b f}	32,7 ± 3,802 ^{a b}	29,1 ± 5,685 ^b
<i>Valor p</i>	0,0174	0,0254	<0,0001	<0,0001	0,0063	0,0095

Tabela 1. Massa Corporal (g), Glicemia em (mg/dL), Pressão Arterial Média (mmHg), Pressão Sistólica (mmHg), Pressão Diastólica e Teste Incremental de animais controle (C) e diabéticos (D), antes e após treinamento por exercício aeróbio contínuo (TC) ou intervalado de alta intensidade (TI). O valor p refere-se à comparação pré-treinamento com pós-treinamento (teste t pareado). A análise comparativa das médias entre grupos pelo teste One way ANOVA está representada pelos símbolos: a - estatisticamente diferente do grupo CS, b - estatisticamente diferente do DS, c - estatisticamente diferente do grupo CTI, d - estatisticamente diferente do grupo DTI, e - estatisticamente diferente do grupo CTC e f - estatisticamente diferente do grupo DTC.

Em seguida, na Figura 7, podemos observar dados do Teste Incremental, porém com apresentação em porcentagem de aumento ou diminuição após o treinamento em relação aos valores basais. Nesta figura, fica clara a piora sofrida pelos grupos sedentários (CS e DS), com redução discretamente maior no grupo DS. Nas análises dos grupos que realizaram atividade física, observa-se que os grupos CTI, DTI, CTC e DTC apresentaram porcentagens estatisticamente maiores de suas capacidades, quando comparados aos grupos CS e DS. Já na comparação entre grupos treinados, o grupo CTI apresentou maior aumento percentual que o grupo DTC, mas não que o grupo CTC, porém o grupo DTI apresentou aumento percentual maior que o grupo DTC e CTC.

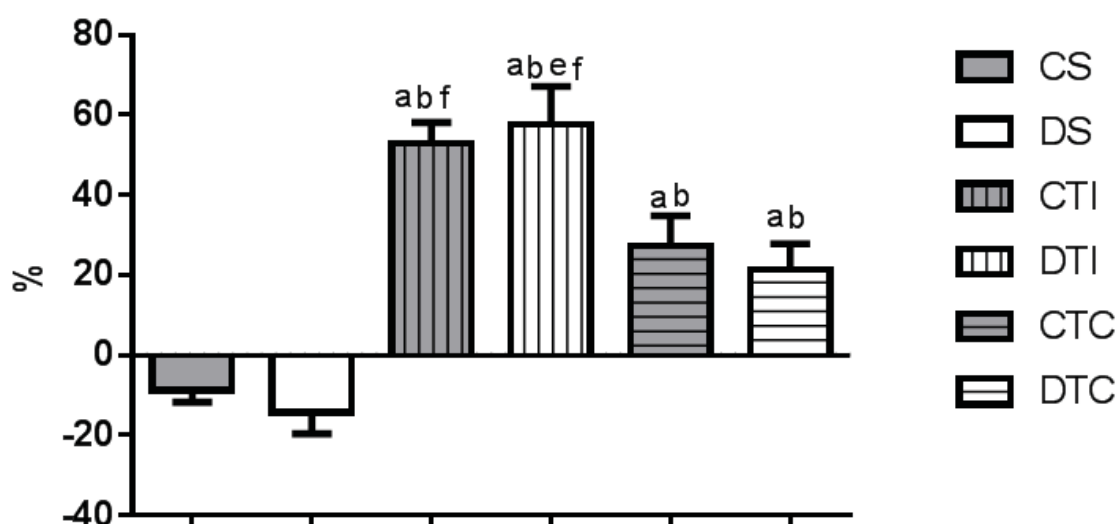


Figura 7: Percentual de variação do teste Incremental após o período de treinamento em relação aos valores iniciais. CS (n=10), DS (n=10), CTI (n=10), DTI (n=10), CTC (n=10) e DTC (n=10). A análise comparativa das médias entre grupos pelo teste One way ANOVA está representada pelos símbolos: a - estatisticamente diferente do grupo CS, b - estatisticamente diferente do DS, c - estatisticamente diferente do grupo CTI, d - estatisticamente diferente do grupo DTI, e - estatisticamente diferente do grupo CTC e f - estatisticamente diferente do grupo DTC.

Nas Tabelas 2 e 3 podemos observar dados relativos à FC e VFC. Houve diferença na FC pré-treinamento, sendo que os grupos diabéticos (DS, DTI e DTC), apresentaram redução da FC basal comparado aos controles (CS, CTI e CTC), porém apenas o grupo DTI apresentou valor estatisticamente menor. Nas análises pós-treinamento, houve FC estatisticamente maior nos grupos CTI e CTC em comparação com todos os grupos diabéticos, mas não houve diferença estatística quando comparado o grupo CS com os grupos diabéticos.

Como observado na Tabela 2, não houve diferença significativa nos índices de VFC de repouso quando os grupos exercitados foram comparados entre si. Observa-se apenas diferenças significativas nas variáveis rMSSD e SD1 de animais diabéticos sedentários entre os momentos pré e pós exercício. Isso representaria um aumento do drive parassimpático sobre o coração. Esta alteração não foi observada nos animais diabéticos exercitados. Adicionalmente, não foram observadas alterações no balanço simpato-vagal nos animais treinados, independentes de serem diabéticos (Tabela 3). Pelos dados apresentados, o exercício aeróbio intervalado de alta intensidade não causou alterações prejudiciais à VFC nos diabéticos.

		CS (n=10)	DS (n=10)	CTI (n=10)	DTI (n=10)	CTC (n=10)	DTC (n=10)
Frequência Cardíaca							
	Pré	404,2±49,3 ^d	358,2±41,5	411,5±32,4 ^d	325,8±73,7	405,6±42,3 ^d	372,1±50,8
	Pós	405,7±36,5	342,7±43,9	441,3±66,6 ^{b d f}	347,8±50,6	436,7±38,2 ^{b d f}	361,2±70,7
	Valor p	0,9047	0,2936	0,1846	0,3654	0,0765	0,5990
SDNN							
	Pré	8,1±2,6	10,4±5,2	9,8±3,6	9,9±3,3	8,4±6,0	9,5±4,6
	Pós	7,1±2,6	10,8±3,8	9,2±4,5	8,5±4,2	9,4±3,6	10,3±4,2
	Valor p	0,1703	0,7704	0,6565	0,3245	0,4584	0,5949
rMSSD							
	Pré	3,3±0,89	2,7±0,99	3,4±1,5	3,8±1,8	5,7±8,3	2,9±0,76
	Pós	3,3±1,3	3,8±1,5	2,9±1,3	2,7±1,1	3,5±1,8	3,7±1,8
	Valor p	0,8261	0,0417	0,3428	0,0752	0,3665	0,1488
SD1							
	Pré	2,3±0,63	1,9±0,7	2,4±1	2,7±1,3	4±5,8	2,1±0,54
	Pós	2,4±0,93	2,7±1,1	2,1±0,92	1,9±0,78	2,5±1,2	2,7±1,5
	Valor p	0,8261	0,0417	0,3429	0,0733	0,3665	0,1601
SD2							
	Pré	11,2±3,7	14,5±7,4	13,6±5,03	13,7±4,8	10,8±6,7	13,2±6,6
	Pós	9,8±3,6	15,1±5,3	12,9±6,3	11,8±5,9	12,9±4,9	14,3±5,8
	Valor p	0,1606	0,8072	0,6805	0,3709	0,1394	0,6175

Tabela 2: Frequência cardíaca e variabilidade da frequência cardíaca (VFC) analisada no domínio tempo em animais controle (C) e diabéticos (D), antes e após treinamento por exercício aeróbio contínuo (TC) ou intervalado de alta intensidade (TI). SDNN: desvio padrão dos intervalos R-R em ms; rMSSD: raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre os intervalos R-R normais adjacentes; SD1: desvio padrão 1; e SD2: desvio padrão 2, estes

dois últimos a partir do plot de poincaré. O valor p refere-se à comparação pré-treinamento com pós-treinamento (teste t pareado). A análise comparativa das médias entre grupos pelo teste One way ANOVA, post-hoc Tukey, está representada pelos símbolos: a - estatisticamente diferente do grupo CS, b - estatisticamente diferente do DS, c - estatisticamente diferente do grupo CTI, d - estatisticamente diferente do grupo DTI, e - estatisticamente diferente do grupo CTC e f - estatisticamente diferente do grupo DTC.

	CS (n=10)	DS (n=10)	CTI (n=10)	DTI (n=10)	CTC (n=10)	DTC (n=10)
Total Power						
Pré	42,7±18,5	78,2±73,8	67,9±44,2	59,3±30	89,9±162,5	57,8±42,6
Pós	46,5±39,2	81,8±46,2	75,3±64,9	57,4±39,5	81,4±64	90,7±76,9
Valor p	0,7430	0,8681	0,6443	0,8844	0,8360	0,1733
LF ms²						
Pré	3,9±3	3,6±3,9	6,9±8,4	7,3±8,3	13,7±27,4	3,1±2,1
Pós	6,5±9,3	7,2±6,2	4,1±3,4	3,2±1,8	7,3±9,6	4,6±4,6
Valor p	0,3959	0,1540	0,2856	0,1476	0,4800	0,2809
HF ms²						
Pré	5±2,4	4,4±4,4	7,1±6,5	6,9±5,8	33,1±87,2	4,7±2,8
Pós	5,9±5,9	6,7±4,8	4,6±3,4	2,9±2,4	6,3±5,5	9,4±16,8
Valor p	0,6526	0,0694	0,2170	0,0623	0,3381	0,3915
LF/HF						
Pré	0,82±0,44	0,93±0,57	0,82±0,40	1±0,46	0,79±0,54	0,74±0,31
Pós	0,98±0,49	1,1±0,72	1,2±1,6	1,4±0,79	0,89±0,64	0,78±0,36
Valor p	0,4249	0,5883	0,5133	0,2141	0,6155	0,7855

Tabela 3. Variabilidade da frequência cardíaca (VFC) analisada no domínio frequência em animais controle (C) e diabéticos (D), antes e após treinamento por exercício aeróbio contínuo (TC) ou intervalado de alta intensidade (TI). Total Power: VLF (muito baixa frequência) +LF+HF; LF: baixa frequência; HF: alta frequência; e relação LF/HF. O valor p refere-se à comparação pré-treinamento com pós-treinamento (teste t pareado). A análise comparativa das médias entre grupos pelo teste One way ANOVA, post-hoc Tukey, está representada pelos símbolos: a - estatisticamente diferente do grupo

CS, b - estatisticamente diferente do DS, c - estatisticamente diferente do grupo CTI, d - estatisticamente diferente do grupo DTI, e - estatisticamente diferente do grupo CTC e f - estatisticamente diferente do grupo DTC.

A Figura 8 apresenta os dados de Pressão Desenvolvida pelo Ventrículo Esquerdo (PDVE). Observa-se que o grupo CTI apresentou capacidade de gerar pressão estatisticamente maior do que os grupos DS e DTC no *baseline*. Após perfusão com Isoproterenol (100nM) a pressão desenvolvida aumentou em todos os grupos, porém não houve diferença na comparação entre grupos.

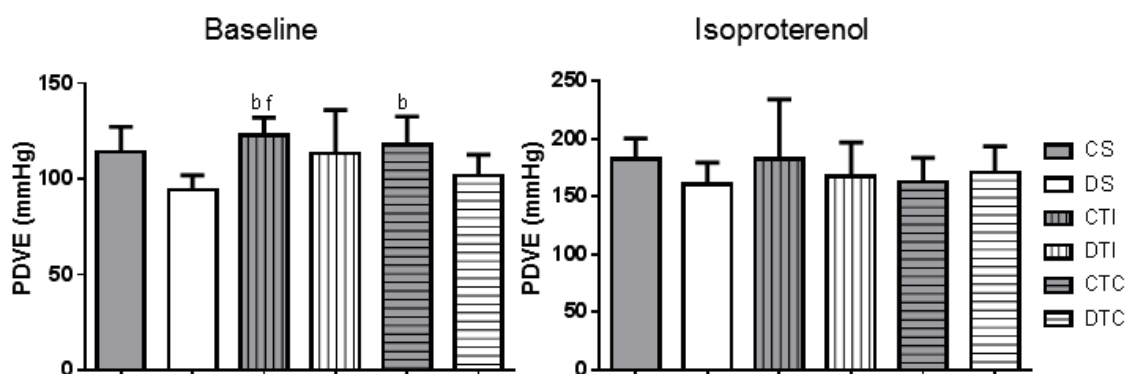


Figura 8: Pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo (PDVE) em corações isolados (método Langendorff) antes e após perfusão de isoproterenol. *Baseline*: CS (n=7), DS (n=7), CTI (n=7), DTI (n=5), CTC (n=8) e DTC (n=9). *Isoproterenol*: CS (n=5), DS (n=7), CTI (n=6), DTI (n=4), CTC (n=8) e DTC (n=5). A análise comparativa das médias entre grupos pelo teste One way ANOVA está representada pelos símbolos: a - estatisticamente diferente do grupo CS, b - estatisticamente diferente do DS, c - estatisticamente diferente do grupo CTI, d - estatisticamente diferente do grupo DTI, e - estatisticamente diferente do grupo CTC e f - estatisticamente diferente do grupo DTC.

A Figura 9 sumariza os dados de FC em corações isolados. Os grupos CTI e CTC apresentaram FC estatisticamente superior aos grupos diabéticos. Mesmo após perfusão com o beta-agonista, o cronotropismo manteve-se, apenas do grupo CTI foi superior aos grupos diabéticos.

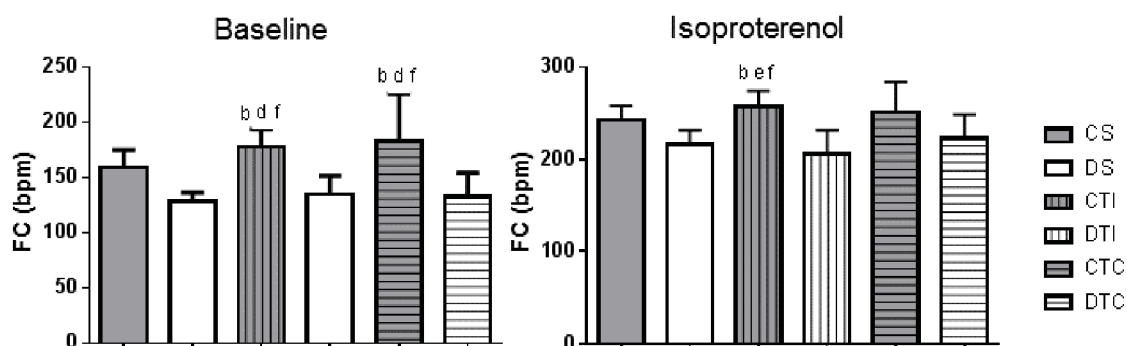


Figura 9: Frequência cardíaca (FC) em corações isolados (método Langendorff) antes e após perfusão de isoproterenol. *Baseline*: CS (n=7), DS (n=7), CTI (n=7), DTI (n=5), CTC (n=8) e DTC (n=9). *Isoproterenol*: CS (n=5), DS (n=7), CTI (n=6), DTI (n=4), CTC (n=8) e DTC (n=5). A análise comparativa das médias entre grupos pelo teste One way ANOVA está representada pelos símbolos: a - estatisticamente diferente do grupo CS, b - estatisticamente diferente do DS,

c - estatisticamente diferente do grupo CTI, d - estatisticamente diferente do grupo DTI, e - estatisticamente diferente do grupo CTC e f - estatisticamente diferente do grupo DTC.

A Figura 10 apresenta os dados da primeira derivada de pressão e de relaxamento por tempo (dP/dt máximo e mínimo), que representam índices de contratilidade do ventrículo esquerdo. Podemos observar que no *baseline* os grupos controles (CS, CTI e CTC) apresentaram $+dP/dt_{\text{máx}}$ estatisticamente superior ao grupo DS. Existindo, portanto, déficit de contratilidade nos animais diabéticos. Já os animais controles treinados (CTI e CTC), também apresentaram valores de $dP/dt_{\text{max/min}}$ estatisticamente maior que o grupo DTC. Em relação ao dP/dt_{min} os grupos controle exercitados (CTI, CTC) apresentam índices maiores inclusive quando comparados aos DTI.

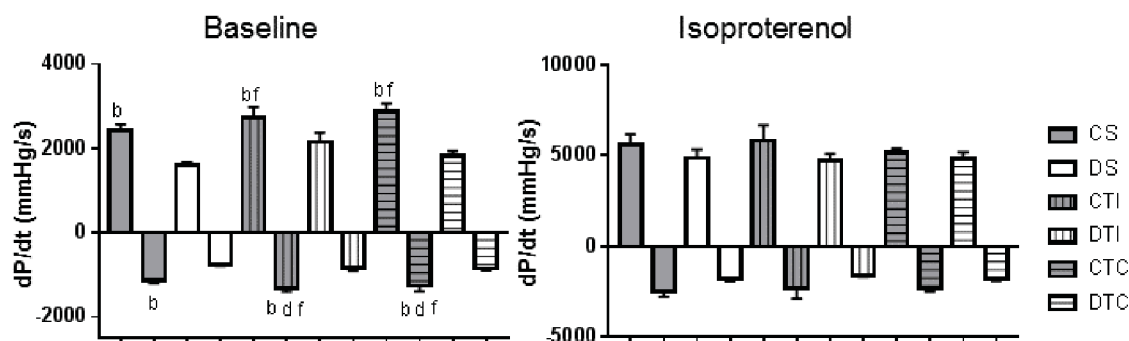


Figura 10: Primeira derivada de pressão por tempo, dP/dt máxima e mínima em corações isolados (método Langendorff) antes e após perfusão de isoproterenol. *Baseline*: CS (n=7), DS (n=7), CTI (n=7), DTI (n=5), CTC (n=8) e DTC (n=9). *Isoproterenol*: CS (n=5), DS (n=7), CTI (n=6), DTI (n=4), CTC (n=8) e DTC (n=5). A análise comparativa das médias entre grupos pelo teste One way ANOVA está representada pelos símbolos: a - estatisticamente diferente do grupo CS, b - estatisticamente diferente do DS, c - estatisticamente diferente do grupo CTI, d - estatisticamente diferente do grupo DTI, e - estatisticamente diferente do grupo CTC e f - estatisticamente diferente do grupo DTC.

Na Figura 11 estão apresentados os valores do Duplo Produto, que é calculado pela multiplicação da FC (em Hertz) pela PDVE. Esta variável expressa uma estimativa de consumo de oxigênio miocárdico durante o trabalho cardíaco. Existe redução significativa do DP em animais diabéticos sedentários comparados aos controles sedentários. O grupo controle sedentário apresentou também valor estatisticamente superior ao grupo DTC. Animais dos grupos controle treinados, CTI e CTC, apresentaram valores estatisticamente superiores aos grupos diabéticos, DS, DTI e DTC, demonstrando capacidade de trabalho superior nos grupos controles, sobretudo nos grupos controles treinados.

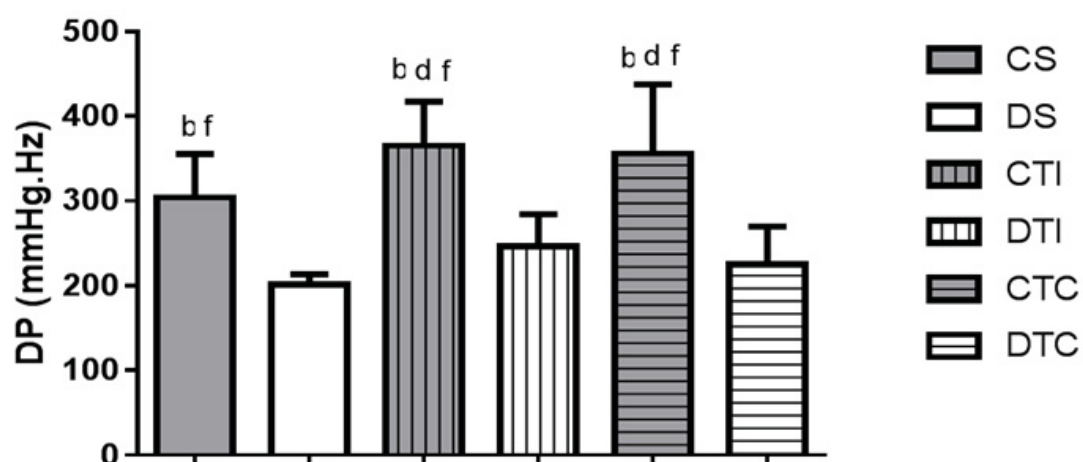


Figura 11: Duplo produto (DP) em corações isolados (método Langendorff). CS (n=7), DS (n=7), CTI (n=7), DTI (n=5), CTC (n=8) e DTC (n=9). A análise comparativa das médias entre grupos pelo teste One way ANOVA está representada pelos símbolos: a - estatisticamente diferente do grupo CS, b - estatisticamente diferente do DS, c - estatisticamente diferente do grupo CTI, d - estatisticamente diferente do grupo DTI, e - estatisticamente diferente do grupo CTC e f - estatisticamente diferente do grupo DTC.

6. DISCUSSÃO

Esta pesquisa analisou os efeitos de um protocolo de exercício intervalado de alta intensidade em comparação a um protocolo de mesmo volume de exercício, porém do tipo convencional (aeróbio contínuo), sobre a variabilidade da frequência cardíaca e contratilidade cardíaca em ratos diabéticos. O exercício intervalado de alta intensidade não causou impacto negativo no controle autonômico cardíaco além de melhorar a capacidade de esforço máximo dos animais treinados, com resultados superiores ao treinamento contínuo, mesmo em animais diabéticos.

O exercício intervalado de alta intensidade, assim como o exercício contínuo, não foi capaz de atenuar a perda de peso nos animais diabéticos. De acordo com a literatura atual, a perda de peso dos ratos diabéticos, assim como o ganho de peso para os ratos saudáveis, são esperados. Entretanto estudos demonstram que o exercício físico, de diversos tipos e intensidade, atuam como preventivos na perda de peso de animais diabéticos (MALFITANO *et al.*, 2014; CAPOTE, 2015; DE ANGELIS *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2016). Estes achados não foram observados na presente pesquisa, talvez pelo curto tempo de treinamento em relação aos outros estudos e o fato de não haver qualquer outro tratamento associado, mesmo medicamentoso, nos grupos diabéticos.

Não foi observada redução estatisticamente significativa da glicemia em ratos diabéticos treinados após o protocolo de exercício físico de quatro semanas, independente da modalidade de exercício. É provável que este resultado seja decorrência do curto tempo de protocolo de exercício. O estudo de Haram *et al.* (2009) reforça nossa hipótese, pois neste estudo foram realizadas oito semanas de exercício intervalado, uma hora diária, cinco dias por semana e os autores obtiveram redução da glicemia de 10 e 15% nos grupos que realizaram exercício contínuo e intervalado, respectivamente. Uma limitação do estudo foi a realização apenas de glicemia capilar, até o momento. É possível que a determinação colorimétrica da glicemia possa estimar com maior precisão as médias, elucidando diferenças estatísticas.

As pressões arterial sistólica e diastólica, assim como a média, não sofreram alteração neste protocolo de quatro semanas de exercício, com exceção do grupo CTI, que ao final do experimento apresentou valor de pressão

sistólica ligeiramente superior. Uma possível explicação seria uma hipertrofia concêntrica decorrente do treinamento, uma vez que a maior capacidade de exercício final foi observada neste grupo. Estudos adicionais dos cortes histológicos obtidos poderiam elucidar esta assertiva, uma vez que medidas *in vivo*, como ecocardiografia, não foram obtidas no estudo. Em relação aos grupos diabéticos treinados, os dados apresentados aqui corroboram com os achados do estudo de Gris   *et al.* (2016), que realizaram um estudo com exercício intervalado de alta intensidade, por dez semanas e também não observou alteração estatisticamente significativa na pressão arterial, seja para o grupo DM sedentário ou para o grupo DM praticando exercício intervalado.

O exercício físico foi capaz de aumentar a capacidade de corrida avaliada pelo teste incremental em todos os grupos exercitados, incluindo diabéticos. Estatisticamente, estes grupos demonstraram maior capacidade de exercício comparado aos animais sedentários, que inclusive apresentaram diminuição dos valores do teste incremental. O exercício intervalado de alta intensidade foi superior ao exercício contínuo, de mesmo volume total. O exercício intervalado de alta intensidade foi capaz de aumentar a capacidade de corrida dos animais acima de 50% (CTI: 52,87% e DTI: 57,68%), enquanto nos treinados com exercício contínuo houve melhora próxima a 30% (CTC: 27,3% e DTC: 21,43%). A pesquisa de Kemi *et al.* (2005) descreveu aumento na capacidade de corrida em ratos correspondendo    112% no exercício intervalado de alta intensidade em comparação ao exercício intervalado de moderada intensidade, onde o aumento foi de apenas 38%, contudo, neste estudo a duração do treinamento foi de 10 semanas

De acordo com diversos estudos na literatura, a bradicardia é um achado comum e frequentemente acompanhado de alterações metabólicas e cardiovasculares em ratos com DM experimental (DE ANGELIS, 2009; BUNAG; TOMITA, SASAKI, 1982; DALL'AGO *et al.*, 2002; JACKSON, 1983; MAEDA *et al.*, 1995). Contudo, nesta pesquisa, conseguimos fazer uma análise comparativa pouco vista nos demais estudos, no que diz respeito a FC pr   e pós-treinamento e a FC intrínseca, obtidas a partir do ECG com os eletrodos subcutâneos implantados e a partir do coração isolado; respectivamente. Os grupos DS, DTI e DTC apresentaram FC intrínseca estatisticamente inferior aos grupos CTI e CTC. Nesta comparação observamos que as alterações da FC

intrínseca são mais expressivas quando comparadas as alterações da FC basal *in vivo*, sugerindo, portanto, que o controle autonômico cardíaco, compensa parcialmente a bradicardia causada pelo modelo de DM.

Nota-se, com estes achados, que o DM possivelmente deprime a capacidade de geração de potenciais no nó sinusal, causando a bradicardia. Outra possibilidade que explicaria a redução da frequência cardíaca intrínseca nos animais diabéticos é o aumento da deposição de fibrose na parede cardíaca, levando a alterações na capacidade de propagação elétrica (DUNCAN, 2011; MAYA; VILLARREAL, 2010; BUGGER; ABEL, 2009). Em relação às alterações da FC basal, há ainda a teoria de alteração de sensibilidade nos pressorreceptores cardíacos, localizados no arco aórtico e seio carotídeo (DALL'AGO *et al.*, 1999). Animais diabéticos apresentam diminuição na sensibilidade dos pressorreceptores, quando comparados a animais controles (MORAES-SILVA *et al.*, 2010). Contudo, como demonstrado no presente estudo, independente da sensibilidade alterada de pressorreceptores, há redução significativa da frequência cardíaca intrínseca no modelo utilizado de *diabetes mellitus* e esta observação merece futuros experimentos que esclareçam seu mecanismo.

A bradicardia apresentada por esses animais já foi observada em estudo prévio deste mesmo grupo de pesquisa (CAPOTE, 2015). Ademais, há na literatura estudos que apresentam dados de redução da FC que corroboram com os achados descritos no presente estudo (DE ANGELIS, 2009; GRISÉ *et al.*, 2016).

Os dados de VFC demonstram que o exercício intervalado de alta intensidade não provocou alterações nocivas no controle autonômico cardíaco. Foi aventada a hipótese de que os ciclos de alta intensidade poderiam causar stress adicional e deteriorante nos mecanismos de controle autonômico, já comprometidos no diabetes. Contudo, não foram encontrados piores índices de VFC em animais diabéticos treinados. Por outro lado, observa-se em animais DS um aumento de índices representativos do estímulo parassimpático ao final dos experimentos, demonstrado pelo aumento de rMSSD e SD1 e uma tendência ao aumento de HF, dados que apoiam os achados de diminuição da VFC com a progressão do DM, tanto em seres humanos (GOTTSÄTER *et al.*, 2006), como em ratos (XUAN *et al.*, 2015; HOWARTH *et al.*, 2005; LO GIUDICE *et al.*, 2002).

É importante destacar que no rato saudável, há um predomínio simpático ao repouso (visto inclusive nestes experimentos onde a frequência intrínseca é bem menor que a FC basal *in vivo*) e um aumento do estímulo parassimpático poderiam representar distúrbio do controle autonômico observado neste modelo (LO GIUDICE *et al.*, 2002; LI *et al.*, 2014). De acordo com o estudo de Capote (2016), os animais diabéticos por STZ sofrem declínio transitório na capacidade da modulação autonômica cardíaca por volta do 14º dia pós indução. Interessantemente, o grupo DTI, na presente pesquisa, apresentou tendência oposta ao grupo diabético sedentário com menores valores de HF e rMSSD, porém sem significância estatística. Estes dados sugerem um efeito benéfico desta modalidade de exercício sobre o controle autonômico no animal.

Futuros estudos, com período de treinamento maior, poderiam elucidar este possível papel protetor do exercício intervalado de alta intensidade na NAC. Portanto, em relação ao controle autonômico cardíaco, a prática do exercício intervalado de alta intensidade parece benéfica para diabéticos. Entretanto, é necessário atentarmos para a mortalidade maior nos animais diabéticos que praticaram o exercício intervalado de alta intensidade (embora apenas 2 animais relacionados ao treinamento comparados a 1 evento em sedentários), podendo esta mortalidade ser devido a hiperglicemia não controlada. Estudos com número amostral maior e maior tempo de treinamento com objetivo específico de avaliação de mortalidade seriam adequados para esclarecer um potencial efeito negativo.

A análise da contratilidade em corações isolados demonstrou que o grupo CTI apresentou PDVE estatisticamente superior aos grupos DS e DTC. Contudo, a PDVE nos animais DTI foi similar aos grupos controles treinados. Animais DS apresentaram tendência a menor pressão desenvolvida comparado ao CS ($p=0,08$). Estes dados demonstram que o treinamento promove aumento da pressão desenvolvida pelo VE em controles e apenas animais diabéticos treinados pelo exercício intervalado de alta intensidade mantiveram PDVE comparativamente similar aos controles treinados. Em estudo prévio do mesmo grupo, Capote *et al.* (2015), observaram em ratos diabéticos sedentários induzidos por STZ, que quatro semanas após a indução houve redução, porém sem significância estatística, da PDVE; embora em outro estudo, realizado por Zhao *et al.* (2010) foi demonstrado redução da PDVE 14 dias após a indução

experimental do DM por STZ. As consequências causadas pelo DM experimental, tais como remodelamento cardíaco, fibrose e rigidez, podem gerar disfunções diastólicas e em casos mais graves disfunções sistólicas, acarretando insuficiência cardíaca (ASBUN; VILLARREAL, 2006; BUGGER; ABEL, 2009).

Em relação às alterações observadas na mecânica de contração cardíaca, foi constatado um déficit de contratilidade representado pela redução da derivada de pressão pelo tempo nos grupos diabéticos, sobretudo a deficiência diastólica representada pela dP/dt_{min} . Este déficit diastólico tem sido descrito por diversos autores (NUNES *et al.*, 2015; DE ANGELIS *et al.*, 2000; BORGES *et al.*, 2006). Contudo, pôde-se observar atenuação no déficit da razão de desenvolvimento de pressão, representado pelo dP/dt_{max} , no grupo de animais diabéticos submetidos ao exercício intervalado.

Os achados descritos corroboram parcialmente com os resultados de Borges *et al.* (2006), que utilizou protocolo de diabetes experimental por STZ (50mg/kg) e fez análises de *performance* cardíaca, avaliando as variáveis de primeira derivada de pressão por tempo e obtendo como resultado declínio da capacidade de gerar pressão por tempo, assim como perda da capacidade de velocidade de relaxamento, resultado este, que se assemelha ao grupo sedentário diabético da presente pesquisa.

Já no estudo de De Angelis *et al.* (2000), foi utilizado um protocolo de exercício de baixa intensidade, em ratos com DM experimentais por STZ. Este exercício utilizou apenas 50% do VO_{2max} e obteve resultados semelhantes aos do presente estudo, onde o grupo diabético sedentário apresentou valores de dP/dt_{max} estatisticamente inferior ao grupo controle também sedentário, em experimentos utilizando corações isolados submetidos a diferentes pressões de enchimento. Entretanto para o grupo DM treinado não houve diferença estatística em comparação ao controle. Na análise da dP/dt_{min} , na mesma situação, no estudo de De Angelis, o grupo DM apresentou valores estatisticamente inferiores ao controle sedentário. O dP/dt_{min} estava preservado em animais exercitados.

As alterações na cinética de relaxamento nos animais diabéticos possivelmente deve-se ao aumento de deposição de tecido fibrótico na parede

do miocárdio, prejudicando a capacidade elástica no coração e às alterações de cinética de recaptação de cálcio (ASBUN; VILLARREAL, 2006; ZHAO, 2010).

De acordo com os achados deste estudo, o exercício intervalado preveniu alterações na cinética de desenvolvimento de pressão, porém sem efeitos significativos no relaxamento. Estudos futuros poderiam confirmar esta observação, por exemplo, utilizando avaliação hemodinâmica direta e investigando mecanismos relacionados à cinética de contração como a expressão de isoformas de miosina e a sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio. Interessantemente, a adição de isoproterenol foi capaz de aumentar os parâmetros em todos os grupos de maneira similar demonstrando a capacidade preservada de resposta beta-adrenérgica nestes animais. Uma limitação do estudo, contudo, é o fato de nem todos os corações isolados terem sido submetidos à perfusão de isoproterenol ou terem estabilidade suficiente que permitisse a quantificação dos dados. Assim, o poder estatístico dos testes ficou reduzido.

O cálculo do duplo produto tem sido relacionado com o trabalho cardíaco ou capacidade metabólica do coração, embora recentemente isto tenha sido contestado (AKSENTIJEVI *et al.*, 2016). Contudo, uma vez que a frequência não foi clampeada, o cálculo do duplo produto nos dá uma ideia da capacidade de desenvolver trabalho do coração isolado em condições basais. Fica evidente que o trabalho desenvolvido por corações diabéticos, mesmo após treinamento por exercício, é reduzido em relação aos animais controles nas mesmas condições.

Em resumo, o exercício intervalado de alta intensidade não causou impacto negativo no controle autonômico cardíaco além de aumentar a capacidade de esforço máximo dos animais diabéticos treinados, com resultados superiores ao treinamento contínuo, mesmo em animais diabéticos. Animais diabéticos apresentaram frequência cardíaca intrínseca reduzida em relação aos controles e o exercício intervalado de alta intensidade manteve a pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo e atenuou o déficit no dP/dt_{max} quando comparado a animais controle.

7. CONCLUSÃO

De acordo com os achados da presente pesquisa, entende-se que a prática do exercício intervalado de alta intensidade foi segura para os ratos diabéticos. Esta modalidade de exercício demonstrou ainda resultados mais promissores no aumento da capacidade aeróbia e sugere melhora na contratilidade cardíaca em comparação ao exercício contínuo. O estudo pode auxiliar em futuros desenhos experimentais para investigar o efeito desta modalidade de exercício em modelos experimentais e em humanos.

REFERÊNCIAS

- AKSENTIJEVI, D.; LEWIS, H. R.; SHATTOCK, M. J. Experimental Physiology Is rate–pressure product of any use in the isolated rat heart? Assessing cardiac “effort” and oxygen consumption in the Langendorff-perfused heart. **Exp Physiol**, v. 10122, n. 101, p. 282–294, 2016.
- ASBUN, J.; VILLARREAL, F. J. The pathogenesis of myocardial fibrosis in the setting of diabetic cardiomyopathy. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 47, n. 4, p. 693–700, 2006.
- BORGES, G. R. et al. Myocardial performance in conscious streptozotocin diabetic rats. **Cardiovascular diabetology**, v. 5, p. 26, 2006.
- BUGGER, H.; ABEL, E. D. Rodent models of diabetic cardiomyopathy. **Disease models & mechanisms**, v. 2, n. 9–10, p. 454–66, 2009.
- BUNAG, R. D.; TOMITA, T.; SASAKI, S. Streptozotocin diabetic rats are hypertensive despite reduced hypothalamic responsiveness. **Hypertension**, v. 4, n. 4, p. 556–565, 1982.
- BUSE, J. B. et al. Primary Prevention of Cardiovascular Diseases in People With Diabetes Mellitus: A scientific statement from the American Heart Association and the American Diabetes Association. **Diabetes Care**, v. 30, n. 1, p. 162–172, 2007.
- CAGALINEC, M. et al. Morphology and Contractility of Cardiac Myocytes in Early Stages of Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus in Rats. v. 8408, p. 489–501, 2013.
- CAPOTE, A. Efeitos Do Diabetes Mellitus Experimental Sobre a Evolução Temporal Da Variabilidade Da Frequência Cardíaca. 2015.
- CARLOS, L. et al. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. **Rev Bras Cir Cardiovasc**, v. 24, n. 2, p. 205–217, 2009.
- DA SILVA, E. et al. Swimming training attenuates the morphological reorganization of the myocardium and local inflammation in the left ventricle of growing rats with untreated experimental diabetes. **Pathology Research and Practice**, v. 212, n. 4, p. 325–334, 2016.
- DALL’AGO, P. et al. Controle reflexo da pressão arterial no diabetes experimental. **Rev. bras. hipertens**, v. 6, n. 3, p. 255–266, 1999.
- DALL’AGO, P. et al. Reflex control of arterial pressure and heart rate in short-

term streptozotocin diabetic rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, n. 7, p. 843–849, 2002.

DE ANGELIS, K. L. D.; A.R. OLIVEIRA, P. DALL'AGO, L.R.A. PEIXOTO, G. GADONSKI, S. LACCHINI, T. G. F. AND M. C. I. Effects of exercise training on autonomic dysfunction management in an experimental model of menopause and myocardial infarction. **Braz J Med Biol Res**, v. 33, n. 4, p. 635–641, 2000.

DESHPANDE, A. D.; HARRIS-HAYES, M.; SCHOOTMAN, M. Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. **Physical therapy**, v. 88, n. 11, p. 1254–64, nov. 2008.

DIAS, F. A L. et al. The effect of myosin regulatory light chain phosphorylation on the frequency-dependent regulation of cardiac function. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 41, n. 2, p. 330–339, 2006.

DUNCAN, J. G. Mitochondrial dysfunction in diabetic cardiomyopathy. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1813, n. 7, p. 1351–1359, 2011.

DYCK, P. J. et al. The prevalence by staged severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort: the Rochester Diabetic Neuropathy Study. **Neurology**, v. 43, n. 4, p. 817–24, abr. 1993.

EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY, H. R. V. et al. Guidelines Heart rate variability. **European Heart Journal**, v. 17, p. 354–381, 1996.

GOTTSÄTER, A. et al. Decreased heart rate variability may predict the progression of carotid atherosclerosis in type 2 diabetes. **Clinical autonomic research : official journal of the Clinical Autonomic Research Society**, v. 16, n. 3, p. 228–34, jun. 2006.

GRISÉ, K. N. et al. High intensity aerobic exercise training improves deficits of cardiovascular autonomic function in a rat model of type 1 diabetes mellitus with moderate hyperglycemia. **Journal of Diabetes Research**, v. 2016, 2016a.

GRISÉ, K. N. et al. High Intensity Aerobic Exercise Training Improves Deficits of Cardiovascular Autonomic Function in a Rat Model of Type 1 Diabetes Mellitus with Moderate Hyperglycemia. v. 2016, 2016b.

GUIRAUD, T. N. A. G. V. M. P. J. M. B. L. et al. High-Intensity Interval Training in Cardiac Rehabilitation. **Sports Medicine (SPORTS MED)**, v. 42, n. 7, p. 587–605, 2012.

HALCOX, J. P. J. et al. Prognostic value of coronary vascular endothelial

dysfunction. **Circulation**, v. 106, n. 6, p. 653–658, 2002.

HARAM, P. M. et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. **Cardiovascular Research**, v. 81, n. 4, p. 723–732, 2009.

HAYKOWSKY, M. et al. A Meta-analysis of the effects of Exercise Training on Left Ventricular Remodeling Following Myocardial Infarction: Start early and go longer for greatest exercise benefits on remodeling. **Trials**, v. 12, n. 1, p. 92, 2011.

HON, E. H. A fetal electrocardiographic electrode. **The Yale journal of biology and medicine**, v. 39, n. 1, p. 54–8, ago. 1966.

HOWARTH, F. C. et al. Long-term effects of streptozotocin-induced diabetes on the electrocardiogram, physical activity and body temperature in rats. **Experimental physiology**, v. 90, n. 6, p. 827–35, nov. 2005.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **Diabetes Atlas**. [s.l.: s.n.].

JACKSON, C. Influence of Short-Term Experimental Diabetes on Blood Pressure and Heart Rate in Response to Neurepinephrine and Angiotensin II in the Conscious Rat. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, p. 260–265, 1983.

JONATHAN MYERS, MANISH PRAKASH, VICTOR FROELICHER, DAT DO, S. P. A. J. E. A. T. Exercise Capacity and Mortality Among Men Referred For Exercise Testint. **The New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 11, p. 793–801, 2002.

KÁTIA DE ANGELIS, MARIA CLAUDIA IRIGOYEN, M. M. of Animal Models. **Auton Neurosci**, v. 145, p. 3–10, 2009.

KEMI, O. et al. Moderate vs. high exercise intensity: Differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. **Cardiovascular Research**, v. 67, n. 1, p. 161–172, 2005.

KLEIGER, R. E.; STEIN, P. K.; BIGGER, J. T. Heart rate variability: measurement and clinical utility. **Annals of noninvasive electrocardiology: the official journal of the International Society for Holter and Noninvasive Electrocardiology, Inc**, v. 10, n. 1, p. 88–101, 2005.

KUDAT, H. et al. Heart rate variability in diabetes patients. **The Journal of international medical research**, v. 34, n. 3, p. 291–296, 2006.

LI, X. et al. Effect of Guizhi Decoction ([symbols; see text]) on heart rate variability and regulation of cardiac autonomic nervous imbalance in diabetes mellitus rats.

Chinese journal of integrative medicine, v. 20, n. 7, p. 524–33, jul. 2014.

LO GIUDICE, P. et al. Autonomic neuropathy in streptozotocin diabetic rats: effect of acetyl-L-carnitine. **Diabetes research and clinical practice**, v. 56, n. 3, p. 173–80, jun. 2002.

MADDEN, K. M. Continuous vs. interval exercise training in hypertensive subjects. **Hypertension Research**, v. 33, n. 6, p. 544–545, 2013.

MAEDA, C. Y. et al. Autonomic Dysfunction in Short-term Experimental Diabetes. **Hypertension**, v. 26, n. 6, p. 1100–1104, 1 dez. 1995.

MALFITANO, C. et al. Diabetic hyperglycemia attenuates sympathetic dysfunction and oxidative stress after myocardial infarction in rats. **Cardiovascular diabetology**, v. 13, p. 131, 2014.

MALHOTRA, A.; SANGHI, V. Regulation of contractile proteins in diabetic heart. p. 34–40, 1997.

MARQUES NETO, S. R. et al. The blockade of angiotensin AT1 and aldosterone receptors protects rats from synthetic androgen-induced cardiac autonomic dysfunction. **Acta Physiologica**, v. 208, n. 2, p. 166–171, 2013.

MAYA, L.; VILLARREAL, F. J. Diagnostic approaches for diabetic cardiomyopathy and myocardial fibrosis. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 48, n. 3, p. 524–529, 2010.

MIKI, T.; YUDA, S.; KOUZU, H. Diabetic cardiomyopathy : pathophysiology and clinical features. p. 149–166, 2013.

MORAES-SILVA, I. C. et al. Baroreflex deficit blunts exercise training-induced cardiovascular and autonomic adaptations in hypertensive rats. **Clinical and experimental pharmacology & physiology**, v. 37, n. 3, p. e114-20, mar. 2010.

MOSTARDA, C. T. et al. Low intensity resistance training improves systolic function and cardiovascular autonomic control in diabetic rats. **Journal of diabetes and its complications**, v. 28, n. 3, p. 273–8, 2014.

NUNES, R. B. et al. Interval and continuous exercise enhances aerobic capacity and hemodynamic function in CHF rats. **Brazilian Journal of Physical Therapy**, v. 19, n. 4, p. 257–263, 2015.

OKOSHI, K.; MUZIO, J. F. C. G. B. P. DI; OKOSHI, A. A. H. F. M. P. Miocardiopatia Diabética. (**Arq Bras Endocrinol Metab**, p. 160–167, 2007.

PAPAIIOANNOU, V. E. et al. Intracardiac origin of heart rate variability, pacemaker funny current and their possible association with critical illness.

Current cardiology reviews, v. 9, n. 1, p. 82–96, 2013.

PEREIRA, F. et al. Interval and continuous exercise training produce similar increases in skeletal muscle and left ventricle microvascular density in rats.

BioMed research international, v. 2013, p. 752817, 2013.

PUMPRLA, J. et al. Functional assessment of heart rate variability: Physiological basis and practical applications. **International Journal of Cardiology**, v. 84, n. 1, p. 1–14, 2002.

RAELENE E. MASER, BRAXTON D. MITCHELL, AARON I. VINIL, R. F. The Association Between Cardiovascular Autonomic Neuropathy and Mortality in Individuals With Diabetes. **Diabetes Care**, v. 26, n. 6, 2003.

RAMAEKERS, D. et al. Heart rate variability and heart rate in healthy volunteers: Is the female autonomic nervous system cardioprotective? **European Heart Journal**, v. 19, n. 9, p. 1334–1341, 1998.

RIBEIRO. MORAES FILHO. Variabilidade da frequência cardíaca como instrumento de investigação do sistema nervoso autônomo. **Rev Bras Hipertens**, v. 12, n. 1, p. 36–40, 2005.

RUBLER, S. et al. New type of cardiomyopathy associated with diabetic glomerulosclerosis. **The American Journal of Cardiology**, v. 30, n. 6, p. 595–602, 1972.

SATO, S. et al. Effects of the High Intensity Interval Training on Myocardial Mitochondria Function in Patients with Type 2 Diabetes. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 48, p. 48, maio 2016.

SILVA, M.; SILVA, M.; LIMA, W. G. DE. Effect of streptozotocin on the glycemic and lipid profiles and oxidative stress in hamsters. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**, n. May 2016, 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Consenso Brasileiro sobre Diabetes. 2000.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2013-2014. **AC Farmacêutica**, p. 1–382, 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes SBD 2015-2016**. [s.l.: s.n.].

TAKADA, J. et al. Neonatal streptozotocin-induced diabetes mellitus : a model of insulin resistance associated with loss of adipose mass. v. 56, p. 977–984, 2007.

VANDERLEI, LUIZ CARLOS MARQUES, CARLOS MARCELO PASTRE,

ROSÂNGELA AKEMI HOSHI, T. D. DE C.; GODOY, M. F. DE. Noções básicas da variabilidade da FC e sua aplicabilidade clínica. v. 24, n. 2, p. 205–217, 2009.

XUAN, Y.-L. et al. In rats the duration of diabetes influences its impact on cardiac autonomic innervations and electrophysiology. **Autonomic neuroscience: basic & clinical**, v. 189, p. 31–6, maio 2015.

ZHAO, S.-M. Cardiac Fibrosis in Diabetic Rats: Regulation and Mechanism of Activation of the PPAR γ Signal Pathway. **The Chinese Journal of Physiology**, v. 53, n. 4, p. 262–267, 2010.

APÊNDICE

Teste incremental (m/min.)

CS			DS		CTI		DTI		CTC		DTC	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Média	27,2	24,7	25,4	21,7	27	41,1	22,9	35,6	26,1	32,7	23,9	29,1
Desvio Padrão	2,394	2,359	2,716	4,596	3,091	4,932	3,446	5,948	2,846	3,802	1,595	5,685
n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Coração Isolado - Pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo (mmHg)

PDVE - BASELINE										PDVE - ISOPROTERENOL				
	CS	DS	CTI	DTI	CTC	DTC	CS	DS	CTI	DTI	CTC	DTC		
Média	114	94,33	122,9	113,3	117,6	101,6	183,3	160,8	182,5	167,7	162,8	171,2		
Desvio Padrão	13,12	7,552	9,158	22,63	14,97	11,02	17,18	18,91	51,95	29,31	21,08	22,62		
n	7	7	7	5	8	9	5	7	6	4	8	5		

Coração Isolado - Frequência cardíaca (bpm)

FC - BASELINE										FC - ISOPROTERENOL				
	CS	DS	CTI	DTI	CTC	DTC	CS	DS	CTI	DTI	CTC	DTC		
Média	159,7	128,6	177,9	135,4	182,8	133	242,4	216	257,7	205,6	251,5	222,9		
Desvio Padrão	15,52	7,985	16,12	16,44	43,39	21,54	15,46	15,45	16,46	26,16	32,54	25,66		
n	7	7	7	5	8	9	5	7	6	4	8	5		

Coração Isolado - Primeira derivada de pressão por tempo (mmHg/s)

dP/dt – BASELINE																	
CS				DS				CTI				DTI		CTC		DTC	